



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Farmacia y Bioquímica

Escuela Profesional de Toxicología

Prevalencia de *Helicobacter pylori* en el agua de consumo humano de pacientes diagnosticados con cáncer gástrico *Helicobacter pylori* positivo en el Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas 2015 – 2016

TESIS

Para optar el Título Profesional de Toxicólogo

AUTOR

Luis Angel BERNABÉ MONSALVE

ASESORES

Carlos Arturo CASTAÑEDA ALTAMIRANO

Carolina BELMAR LÓPEZ

Lima, Perú

2017



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Bernabé L. Prevalencia de *Helicobacter pylori* en el agua de consumo humano de pacientes diagnosticados con cáncer gástrico *Helicobacter pylori* positivo en el Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas 2015 – 2016 [Tesis de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Escuela Profesional de Toxicología; 2017.

1493



Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Farmacia y Bioquímica
Decanato



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Los Miembros del Jurado Examinador y Calificador de la Tesis titulada:

“Prevalencia de *Helicobacter pylori* en agua de consumo humano de pacientes diagnosticados con cáncer gástrico *Helicobacter pylori* positivo en el Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas 2015-2016”

Que presenta el Bachiller en Toxicología:

LUIS ANGEL BERNABÉ MONSALVE

Que reunidos en la fecha se llevó a cabo la **SUSTENTACIÓN** de la **TESIS**, y después de las respuestas satisfactorias a las preguntas y objeciones formuladas por el Jurado, y practicada la votación han obtenido la siguiente calificación:

Diecesiete (17), SOBRESALIENTE

en conformidad con el Art. 34.º del Reglamento para la obtención del Grado Académico de Bachiller en Toxicología y Título Profesional de Toxicólogo (a) de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Lima, 04 de diciembre de 2017.

Q.F. TOX. Jesús Víctor Lizano Gutiérrez
Presidente

Mg. Francisco Javier María Ramírez Cruz
Miembro

Mg. Carmen Gladys Peña Suasnabar
Miembro

Q.F. Robert Dante Almonacid Román
Miembro

“FARMACIA ES LA PROFESIÓN DEL MEDICAMENTO, DEL ALIMENTO Y DEL TÓXICO”



Este trabajo de tesis está dedicado:

A mi familia, por su confianza y apoyo incondicional, por su aliento constante en
cada objetivo que me he propuesto.

Agradecimientos

A la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, por brindarme los conocimientos necesarios para mi formación profesional.

Al Dr. Carlos Castañeda Altamirano, por orientarme durante el asesoramiento de esta tesis, y por brindarme los lineamientos necesarios para conocer el mundo de la investigación, contribuyendo así en mi formación profesional.

A la Escuela Profesional de Toxicología, a mis profesores, y especialmente al Dr. Jesús Lizano Gutiérrez, por todas sus enseñanzas y el conocimiento brindado durante mi formación académica de pregrado.

.

A la Dra. Carolina Belmar, por el apoyo en la revisión de este trabajo y por la orientación en el desarrollo de la misma.

Al Departamento de Investigación y los servicios del INEN, por brindarme las fuentes necesarias para el desarrollo de este trabajo, y permitirme conocer la realidad del cáncer en nuestro país.

Tesis financiada por el Programa Nacional de Innovación para la Competitividad y Productividad (Innovate Perú), con el contrato 430-PNICE-PIAP-2014

ÍNDICE

ÍNDICE DE TABLAS.....	1
ÍNDICE DE FIGURAS.....	2
INDICE DE GRÁFICOS.....	3
INDICE DE ANEXOS.....	4
ABREVIATURAS.....	5
RESUMEN.....	6
ABSTRACT.....	7
I. INTRODUCCIÓN	8
1.1. Justificación.....	12
1.2. Objetivo General	13
1.3. Objetivos específicos.....	13
1.4. Hipótesis	13
II. MARCO TEORICO	14
2.1. Antecedentes	14
2.2. Bases teóricas.....	18
III. PARTE EXPERIMENTAL	35
3.1. Identificación de los pacientes con cáncer gástrico	36
3.2. Elaboración de encuesta a los pacientes	37
3.3. Toma de muestra de agua.	37
3.4. Procesado de muestra de agua	38
3.5. Detección del <i>Helicobacter pylori</i> en las muestras de agua	38

3.6. Extracción de ADN bacteriano	40
3.7. Cebadores	41
3.8. PCR a tiempo real	41
3.9. Condiciones de la PCR	41
IV. RESULTADOS	43
4.1. Descripción de las características demográficas	47
4.2. Descripción de antecedentes clínicos	48
4.3. Descripción de las características patológicas	49
V. DISCUSIÓN	60
VI. CONCLUSIONES	65
VII. RECOMENDACIONES.....	67
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	68
ANEXOS	73

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Características demográficas y características de la obtención y consumo de agua de la población en estudio.....	43
Tabla 2. Características demográficas de la población en estudio.....	47
Tabla 3. Tipo de abastecimiento de agua y tipo de agua de consumo.....	48
Tabla 4. Antecedentes patológicos.....	48
Tabla 5. Características patológicas.....	49
Tabla 6. Tipo de cirugía, tratamiento recibido, presencia de metástasis y estatus.....	52
Tabla 7. Evaluación patológica de <i>H. pylori</i> en población de estudio.....	52
Tabla 8. Evaluación molecular de <i>H. pylori</i> en población de estudio.....	53
Tabla 9. Características demográficas de pacientes con resultado de <i>H. pylori</i> positivo en agua de su domicilio.....	53
Tabla 10. Características patológicas de los pacientes con resultado de <i>H. pylori</i> positivo en agua de domicilio.....	54
Tabla 11. Características demográficas de los pacientes residentes en los domicilios con resultado positivo de <i>H. pylori</i> en el agua de su domicilio.....	57

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Factores que influncian el origen y desarrollo del cáncer gástrico.....	28
Figura 2. Sistema de filtrado al vacío.....	38
Figura 3. Procedimiento de extracción y raspado del filtro.....	39
Figura 4. Centrifugación y resuspensión del pellet obtenido.....	40

INDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Tiempo residiendo en el domicilio.....	58
Gráfico 2. Abastecimiento de agua en el domicilio.....	58
Gráfico 3. Tipo de agua de consumo	59

INDICE DE ANEXOS

Anexo 1.	Recolección de muestras de agua domiciliarias.....	73
Anexo 2.	Sistema de filtrado al vacío.....	73
Anexo 3.	Consentimiento informado para la encuesta.....	74
Anexo 4.	Aprobación del comité de ética.....	75
Anexo 5.	Renovación de la aprobación del comité de ética.....	76

ABREVIATURAS

ADN: Acido Desoxirribonucleico

CagA: gen A asociado a la citotoxina

EDTA: ácido etilendiaminotetraacético

HBV: virus de la hepatitis B

HCV: virus de la hepatitis C

HIV: virus de la inmunodeficiencia humana

H. pylori: Helicobacter pylori

OMS: Organización Mundial de la Salud

PCR: Reacción en cadena de las polimerasas

qPCR: Reacción en cadena de las polimerasas cuantitativas

QT: quimioterapia

TNF: factor de necrosis tumoral

rpm: revoluciones por minuto

RT: radioterapia

VEB: virus de Epstein-Barr

RESUMEN

En el presente trabajo se evaluó la presencia de *H. pylori* en el agua de consumo humano de los pacientes diagnosticados con cáncer gástrico y que son *H. pylori* positivo. La población de estudio estuvo conformada por 84 muestras de agua que correspondían a 84 pacientes con diagnóstico de cáncer gástrico. Se recolectaron las muestras de agua, con un volumen de 2L., de cada domicilio. Se evaluó la presencia de los genes de factores de colonización: ureasa (ureA) y proteína de shock térmico (hspA), mediante la técnica de Reacción en cadena de las polimerasas cuantitativa (qPCR). De la población en estudio se observó que el 47.62 % eran mujeres y el 52.38 % eran varones. Todos los pacientes en estudio residían en Lima, pero el 70.24% nacieron en provincia y el 29.76% nacieron en Lima. La zona de Lima sur presentó la mayor cantidad de pacientes con diagnóstico de cáncer gástrico con un 28.57%, seguida de Lima norte y Lima este con 21.43% y 20.24% respectivamente. Se documentó que el 84.52% de los pacientes venían residiendo en sus hogares un tiempo mayor a 10 años, y sólo el 8.33% residían en su domicilio actual un tiempo no mayor a 5 años. De las 84 muestras de agua evaluadas, se observó una prevalencia de *H. pylori*, con al menos un resultado positivo en alguno de los dos factores de colonización evaluados, en el 11.90 % (10/84) del total de las muestras agua evaluadas, ubicándose 6 de ellas en la zona este de Lima.

ABSTRACT

The present study evaluated the presence of *H. pylori* in the drinking water of patients diagnosed with gastric cancer and *H. pylori* positive. The study population consisted of 84 water samples that corresponded to 84 patients with a diagnosis of gastric cancer. The samples of water, with a volume of 2L., Were collected from each home. The presence of the colonization factor genes: urease (ureA) and heat shock protein (hspA) were evaluated by the quantitative polymerase chain reaction (qPCR) method. Of the population under study it was observed that 47.62% were women and 52.38% were men. All the patients in study resided in Lima, but 70.24% were born in the province and 29.76% were born in Lima. The region of Lima South presented the largest number of patients with gastric cancer diagnosed with 28.57%, followed by Lima North and Lima East with 21.43% and 20.24% respectively. It was documented that 84.52% of the patients had been living in their homes for more than 10 years, and only 8.33% lived in their current home for a period of no more than 5 years. Of the 84 water samples evaluated, a prevalence of *H. pylori*, with at least one positive result in one of the two colonization factors evaluated, was observed in 11.90% (10/84) of the total water samples evaluated, being located 6 of them in the zone east of Lima.

I. INTRODUCCIÓN

El agua es un elemento principal para el desarrollo de la vida, y todas las personas deben disponer de un suministro suficiente, inocuo y accesible. El agua de consumo humano, según se define en las Guías para la calidad del agua potable de la Organización Mundial de la Salud (OMS), no debe ocasionar ningún riesgo significativo para la salud y debe ser adecuada para todos los usos domésticos habituales, incluida la higiene personal¹.

El agua destinada para el consumo humano, debe estar exenta de: (i) bacterias heterotróficas, virus, huevos y larvas de helmintos, quistes y ooquistes de protozoarios patógenos; y (ii) organismos de vida libre, como algas, protozoarios, copépodos, rotíferos y nemátodos en todos sus estadios evolutivos². *H. pylori*, es más resistente al cloro que las bacterias coliformes comunes y permanece viable en el agua varios días, lo que favorece su transmisión³. En un estudio se demostró que el agua de la Atarjea, central de procesamiento desde donde se distribuye el agua a la ciudad de Lima, presentaba material genético de *H. pylori*⁴. Si bien es cierto que el estrato socioeconómico puede condicionar la falta de saneamiento básico y por tanto favorecer una posible contaminación del agua de consumo, existe también la posibilidad de que el agua que llega a los hogares pueda estar ya contaminada, provocando una infección con *H. pylori*, principalmente en la población infantil, esto se concluyó luego de analizar 48 muestras de aguas obtenidas de diferentes pueblos jóvenes en Lima, las cuales fueron analizadas usando la técnica de reacción en cadena de la polimerasa a tiempo real o cuantitativa (qPCR) obteniendo resultados positivos para la presencia de esta bacteria en el agua almacenada en pozos e incluso en el agua potable⁵.

El consumo de agua no tratada es considerado un factor de riesgo para la infección. Así, en nuestro país, en los últimos años se ha producido un incremento de la cobertura del servicio de agua potable lo cual ha sido documentado a través de la Encuesta Nacional de Hogares (ENAH). La proporción de población con acceso a servicios de saneamiento mejorados se ha elevado en el país, tanto en zonas urbanas como rurales. En el 2001 el 59,4% de la población del país, el 79,7% en zonas urbanas y 15,5% en zonas rurales, accedían a este servicio; al año 2012 la cobertura llegó al 77,8% de la población del país, al 88,7% del área urbana y al 45,6% del área rural. Sin embargo, la cobertura de agua potable sigue siendo insuficiente en la población de la sierra y de la selva y en zonas de nivel socioeconómico bajo⁶.

Los reservorios y vías de transmisión de *H. pylori* en humanos aún no están claras, aunque se han sugerido múltiples rutas de transmisión. *H. pylori* ha sido detectado en aguas superficiales y residuales, en agua de mar y en alimentos de origen animal como leche de vaca y oveja, sugiriendo que la transmisión ocurre de forma interpersonal oral-oral y/o oral-fecal. Trabajos recientes han indicado la posibilidad de que los biofilms de los sistemas del agua para consumo humano podrían funcionar como reservorios de la bacteria, en donde puede permanecer durante periodos prolongados pudiendo actuar como un intermediario en la transmisión fecal-oral⁷.

La infección por *H. pylori* es una de las más comunes en el hombre, y se presenta en todo el mundo, siendo un factor casi esencial en el proceso de carcinogénesis, es decir incrementa de forma significativa el riesgo de desarrollar cáncer gástrico^{8,9}.

En el año 1994, la Agencia Internacional de Investigación del Cáncer; del inglés, *International Agency for Research on Cancer* (IARC), ubicó a *H. pylori* en el grupo 1 de su clasificación, considerándolo como carcinógeno para el ser humano¹⁰. El *H. pylori* es un bacilo gram-negativo y microaerófilo con una morfología espiral cuando se encuentra en la mucosa gástrica y menos espiral cuando crece en medios artificiales. Es ureasa, oxidasa y catalasa positiva, además es una bacteria capaz de colonizar la mucosa gástrica y provocar una respuesta inmune en el huésped⁹.

Existe gran variedad genética entre cepas de *H. pylori*, lo que les confiere diferencias en su potencial patogénico y carcinogénico. La mayoría de las cepas de *H. pylori*, expresan factores de virulencia que afectan diferentes rutas de señalización en el huésped. Además, cuenta con un número de adhesinas que permiten su adherencia al epitelio gástrico. Esta adhesión es esencial para asegurar la prolongada persistencia de la bacteria en el estómago y para la inyección de diferentes proteínas oncogénicas en las células epiteliales del huésped¹¹.

La infección se adquiere principalmente en la infancia y permanece presente para toda la vida si no se trata con una terapia combinada de antibióticos, ya que *H. pylori* presenta resistencia bacteriana frente a metronidazol, claritromicina y a tetraciclina como terapias individuales^{9,12}.

En nuestro país la infección con *H. pylori* es común y se ha logrado demostrar la presencia de esta bacteria en pacientes con gastritis, independientemente de la región en que residan. Concluyendo además que la población se infecta antes y con una mayor tasa, en comparación con los países desarrollados. Por otra parte, se sabe que en la población peruana se presenta una cepa de *H.*

pylori resistente a ciertos antimicrobianos, similar a lo que se presenta en el continente africano, en donde más del 90 % de las cepas de *H. pylori* son resistentes a metronidazol, mientras que en Australia y Europa menos del 20 % de las cepas son resistentes a este fármaco¹³.

Cabe resaltar que durante los años 1985 y 2002 se observó una disminución de la prevalencia de la infección en pacientes con gastritis crónica activa procedentes de estratos socioeconómicos medio y alto, esto tiene implicancia importante en la patología digestiva de la población peruana; ya que en la actualidad se podría ver disminuida la prevalencia de gastritis, ulcera duodenal, ulcera gástrica y adenocarcinoma de estómago, en forma similar a lo que sucede actualmente en los países desarrollados¹⁴.

El Cáncer Gástrico es la cuarta neoplasia más común y la segunda causa de mortalidad a nivel mundial. Casi 1 millón de casos de cáncer gástrico son diagnosticados cada año, presentando una sobrevida a los 5 años de solo 15%, lo cual se debe a que el diagnóstico de la enfermedad se produce en estadios tardíos^{15,16}.

Según el registro de cáncer de Lima Metropolitana, se registraron 4821 casos nuevos de cáncer de estómago entre los años 2010- 2012. Asimismo, se registraron 3437 muertes por cáncer de estómago , siendo el tipo de neoplasia que más muertes causó durante el periodo de tiempo mencionado anteriormente¹⁷.

El cáncer gástrico es una enfermedad de origen multifactorial, pero se considera a la infección con *H. pylori* como una causa primaria; aunque sus efectos son modulados por factores microbianos, ambientales y propios del

huésped. Además, el cáncer gástrico es uno de los pocos tipos de neoplasias directamente relacionadas con un agente infeccioso¹⁸.

1.1.- Justificación

El cáncer gástrico es una neoplasia con uno de los mayores índices de mortalidad en nuestro país, con una tasa de 12,1 por cada 100.000 habitantes¹⁷, es por ello que resulta importante conocer los factores que condicionan la aparición de esta enfermedad, en este punto, un factor de riesgo importante es la presencia de *H. pylori*, ya que desempeña un papel importante en el desarrollo de gastritis, úlceras gástricas y cáncer gástrico¹¹. Debido a las pobres condiciones de saneamiento que presenta la gran parte de viviendas en nuestra ciudad, ya que Hultén y col. en 1996, encontraron *H. pylori* (10/20) en muestras de agua de pueblos jóvenes en la ciudad de Lima, por ello resulta necesario analizar si el abastecimiento de agua puede ser la fuente principal de infección por *H. pylori*, y con ello relacionar la presencia de este microorganismo en el agua de los domicilios donde residen los pacientes diagnosticados con cáncer gástrico y las diferentes variables relacionadas con las condiciones de abastecimiento o cuidados al consumir el agua. Con los resultados obtenidos en este estudio se podrá tener un panorama más amplio, además de una estadística real y actual, de la frecuencia en que se presenta este microorganismo en el agua de consumo de los pacientes diagnosticados con cáncer gástrico y, a partir de ello, generar recomendaciones importantes en el tema de prevención frente a un problema de salud de carácter nacional y mundial.

1.2.- Objetivos

Objetivo general

Evaluar la presencia de *H. pylori* en el agua de consumo humano de los pacientes diagnosticados con cáncer gástrico y que son *H. pylori* positivo.

1.3.- Objetivos específicos

- I. Evaluar la presencia de los factores de colonización ureA y hspA en las muestras de agua de consumo humano de los pacientes diagnosticados con cáncer gástrico y que son *H. pylori* positivo.
- II. Evaluar la presencia de los factores de colonización del *H. pylori* en el agua de consumo humano de los pacientes diagnosticados con cancer gástrico según la zona de Lima en la que fueron tomadas las muestras de agua.
- III. Evaluar la presencia de los factores de colonización del *H. pylori* en el agua de consumo humano de los pacientes diagnosticados con cancer gástrico según el tiempo de residencia en el domicilio en el que fueron tomadas las muestras de agua.

1.4.- Hipótesis

El agua de consumo de los pacientes diagnosticados con cáncer gástrico y que son *H. pylori* positivo, está contaminada con *H. pylori*.

II. MARCO TEORICO

II.1. ANTECEDENTES

- *Santiago y col.* evaluaron la presencia y viabilidad del *H. pylori* en agua potable de distribución pública en una localidad de la ciudad de Valencia, España. Se analizaron 24 muestras de agua (15 de fuentes públicas y 6 de grifos domésticos). Se tomó un volumen de muestra de 5 litros, cada una fue filtrada en membranas de nitrocelulosa de 0.45 µm de porosidad, a partir de las cuales se realizó el proceso de extracción de ADN. La evaluación de la presencia del *H. pylori* se realizó mediante la técnica de qPCR, utilizando cebadores específicos para el gen *VacA*. La evaluación de la viabilidad de células de *H. pylori* se realizó mediante conteo viable directo combinado con hibridación fluorescente *in situ* (DVC-FISH). Así, se obtuvieron 16 muestras positivas para la presencia de *H. pylori*, y 6 muestras positivas para la viabilidad de células de *H. pylori* de un total de 24 muestras. Se concluyó que *H. pylori* puede encontrarse en el agua de consumo a pesar de su potabilización¹⁹.
- *Khan y col.* evaluaron la prevalencia de *H. pylori*, en 50 muestras de aguas potable de distribución pública de 18 localidades distintas del área metropolitana de Karachi, Pakistán. Se tomó un volumen de muestra de 1 litro, cada una fue filtrada en membranas de nitrocelulosa de 0.45 µm, a partir de las cuales se realizó el proceso de extracción de ADN. La identificación de *H. pylori* se realizó mediante PCR convencional mediante el empleo de cebadores específicos para el gen 16S rRNA de *H. pylori*. Se obtuvieron 2 muestras de agua positivas para la presencia de *H. pylori*.

Concluyendo así que hay presencia de *H. pylori* en muestras de agua potable²⁰.

- *Horiuchi y col.* evaluaron la presencia de *H. pylori* en 36 muestras, divididas en 4 grupos según su procedencia: 10 muestras de grifos de agua, 6 muestras de agua potable, 10 muestras de agua de río y 10 muestras de agua de mar. Se tomó un volumen de muestra de 400 mL, en el caso de agua de grifo y agua potable; y un volumen de muestra de 20 L, en agua de río y agua de mar, y cada una fue filtrada en membranas de 0.22 µm, a partir de las cuales se realizó el proceso de extracción de ADN. La identificación del *H. pylori* se realizó mediante PCR convencional, PCR anidada y qPCR, utilizando cebadores específicos para los genes urea, adhesina y 16S rRNA. Se obtuvieron 2 muestras de agua positivas para la presencia del gen 16S rRNA de *H. pylori*, mediante qPCR, concluyendo que esta técnica es la adecuada para la detección de *H. pylori* en muestras de agua²¹.
- *Mazari-Hiriart y col.* evaluaron la presencia del gen 16S rRNA de *H. pylori* en 5 sistemas de agua de la Ciudad de México, México. Se analizaron 139 muestras de agua, las cuales fueron: agua de pozos de extracción (sistema 1), agua pretratada (sistema 2), agua postratada (sistema 3), agua residual tratada (sistema 4) y agua residual no tratada (sistema 5). Se tomó un volumen de muestra de 500 mL y cada una fue centrifugada. El precipitado obtenido se diluyó en 10 mL de buffer Tris-HCl 10 mM y EDTA 1 mM, a partir de esta dilución se tomaron alícuotas para realizar la extracción

del ADN. La identificación del *H. pylori* se realizó mediante PCR, utilizando los cebadores específicos de *H. pylori*. Finalmente, se obtuvo que 4 de los 5 sistemas de agua evaluados evidenciaron presencia de *H. pylori*, 58 muestras de un total de 139 fueron positivas a la presencia de *H. pylori*, con una prevalencia de 42 % (95% CI 34–50%). Todas las muestras del sistema 3 fueron negativas. Se concluyó la presencia de genes de *H. pylori* en agua de consumo humano, con un porcentaje alto en agua proveniente de pozos de extracción²².

- *Al-Sulami y col.* evaluaron la presencia de *H. pylori* en agua de consumo de 24 distritos de Basrah, Irak. Se analizaron 266 muestras de agua de grifo y 205 muestras de agua de tanques de osmosis inversa, con un volumen de 500 mL cada una. Las muestras se filtraron en membranas de 0.22 µm y estas fueron colocadas en tubos que contenían 2 mL de agar de tripticasa de soya (TSB) durante una hora, posteriormente se tomaron 2 mL y se realizó el sembrado en agar modificado de Columbia, durante 2 días a 37°C. La detección del gen 16SrRNA se realizó en aquellos cultivos que dieron resultados positivos en las pruebas bioquímicas de identificación de *H. pylori*. Seis muestras de agua de grifo y 1 muestra de agua de tanque fueron positivas de un total de 11 muestras de grifo y 3 muestras de agua de tanque de osmosis, respectivamente, también fueron positivas a las pruebas bioquímicas y morfológicas. Se determinó que la combinación de las técnicas de cultivo y PCR, dan resultados que representan una clara señal de la peligrosa presencia del patógeno en el agua de consumo²³.

- *Amirhooshang y col.* investigaron la prevalencia de *H. pylori* en muestras de agua potable en Kermanshah, Irán. Se recogieron muestras de agua potable de Kermanshah, las cuales fueron procesadas con filtros de nitrocelulosa de 0,45 µm. El sedimento bacteriano fue sometido a extracción de ADN y luego aplicaron la técnica de PCR para la detección de *H. pylori* utilizando cebadores dirigidos a la región conservada del gen ureC. Las tasas de detección global de ADN de *H. pylori* en las muestras de agua fue del 56% (66/118) con una frecuencia del 36% (25/70) en muestras de agua potable y 85% (41/48) en agua de pozos. Concluyeron que existió una contaminación por *H. pylori* en el sistema de distribución de agua debido a tuberías, lo cual explica la alta prevalencia de *H. pylori* en el agua de consumo²⁴.
- *El-Sharouny y col.* detectaron la presencia de *H. pylori* en algunos sistemas de agua en Egipto, así como en muestras de sangre de pacientes con úlceras de estómago. Recolectaron 51 muestras de agua de las provincias egipcias; Giza, Alejandría, Monofia, Beheira, Minya y Sohag. Posteriormente las muestras de agua fueron procesadas para la detección del gen ureC, ya que es una secuencia muy específica en el ADN de *H. pylori*. Se obtuvo dos muestras positivas a la presencia de *H. pylori*, pertenecientes a las provincias de Beheira y Alejandría. Se concluyó que existe una gran posibilidad de que *H. pylori* se transmita a través del agua potable, provocando una infección epidémica, particularmente en áreas densamente pobladas²⁵.

- *Holman y col.* mediante la técnica de qPCR identificaron la presencia del ARN ribosómico 16S de *H. pylori* en muestras de agua marinas. *H. pylori* se detectó en 31 lugares muestreados; Oak Grove Island y Village Creek Landing en Georgia, el río Maracas en Trinidad, y Ceiba Creek en Puerto Rico. Estos resultados confirmaron el posible riesgo para la salud pública la distribución generalizada de *H. pylori* en aguas costeras subtropicales y tropicales⁷.
- *Hulten y col.* en el año 1996, evaluaron la prevalencia de *H. pylori* en agua de consumo de una comunidad en la cual se presentaban altas tasas de infección por *H. pylori* en niños peruanos. Se recolectaron 48 muestras de agua de diferentes puntos de asentamiento humanos cercanos a Lima. Mediante la técnica de PCR identificaron la presencia del gen adhesina de *H. pylori* y del ARN 16S ribosomal. Como resultados obtuvieron 24 muestras positivas a la presencia del gen adhesina y 11 muestras positivas a la presencia del ARN 16S ribosomal de *H. pylori*, concluyendo que existe presencia de *H. pylori* en agua de consumo humano como fue anteriormente descrito mediante estudios epidemiológicos⁵.

II.2. BASES TEORICAS

1. Epidemiologia

El cáncer gástrico es una de las neoplasias malignas de mayor frecuencia a nivel mundial para ambos sexos, es el quinto tipo de cáncer más común en el mundo, después de los canceres de pulmón, mama, colon y próstata. Según la GLOBOCAN, en el año 2012 se registraron casi un millón de nuevos casos de

cáncer de estómago alrededor del mundo (952.000 casos, lo que corresponde al 6,8% del total de casos de neoplasias), estos resultados evidencian un cambio sustancial desde las primeras estimaciones en 1975, año en el cual el cáncer de estómago fue la neoplasia más común. Más del 70% de los casos de cáncer gástrico (677.000 casos) se registran en los países en desarrollo (456.000 en los hombres, 221.000 en las mujeres), y la mitad del total de casos a nivel mundial se presentan en China. El cáncer de estómago es la tercera causa de muerte por cáncer en ambos sexos en todo el mundo (723.000 muertes, 8.8% del total). Las tasas de mortalidad más altas se encuentran en Asia oriental (24 por 100.000 hombres, 9,8 por 100.000 mujeres), las más bajas en América del Norte (2.8 y 1.5, respectivamente). Las tasas de mortalidad elevadas también están presentes en ambos sexos en Europa central y oriental, y en América Central y del Sur. En nuestro país la tasa de incidencia de cáncer gástrico en hombres es de 16.6 por 100,000 y en mujeres de 15 por 1000,000. El riesgo de desarrollar cáncer gástrico aumenta con la edad, ya que se presenta con mayor frecuencia entre los 55 y 80 años de edad y muy pocas veces en pacientes menores de 30 años^{18,26}.

Se ha evidenciado una disminución temporal de las tasas de incidencia de cáncer gástrico en países en desarrollo, lo cual se atribuye a la reducción de la infección por *H. pylori* que está relacionada con el mejoramiento de las prácticas de conservación de alimentos, así como el uso de refrigeración y mejor nutrición.

Países como Japón y Corea, han disminuido sus tasas de mortalidad, debido a la vigilancia que realizan al cáncer gástrico, y se complementa con los avances

quirúrgicos y oncológicos. Cabe precisar que se ha informado un aumento de la incidencia del cáncer gástrico de cardias²⁷⁻²⁹.

2. Etiología

El cáncer gástrico es una enfermedad multifactorial, es decir que hay una variedad de factores ambientales, infecciosos y factores intrínsecos del huésped que pueden interactuar colaborando así, al desarrollo del cáncer gástrico. Uno de los principales agentes que pueden conllevar al desarrollo de cáncer gástrico es la infección con *H. pylori*, ya que es considerada como un agente carcinógeno. Se ha estimado que la infección por esta bacteria es responsable del 77% de los casos de cáncer gástrico distal y se asocia con ambos tipos, intestinal y difuso, pero no con carcinomas originados en el cardias gástrico. *H. pylori* también se reconoce como un agente etiológico en linfomas originados en el tejido linfoide asociado a mucosa (linfomas MALT)¹⁸.

El virus de Epstein-Barr (VEB) también es considerado un carcinógeno, ya que a través de múltiples estudios en diferentes partes del mundo se ha encontrado la presencia de VEB en el 5 al 16% de los carcinomas gástricos, y es por ello que se le asociado como agente etiológico^{30,31}. Un metaanálisis de 70 estudios encontró una prevalencia agrupada de casos con VEB positivos del 9% en casos de cáncer gástrico. Esta prevalencia fue similar en los casos de Asia, Europa y las Américas³². Los pacientes varones tenían el doble de probabilidades de tener tumores VEB positivos que las mujeres y los tumores que surgían en el cardia o corpus gástrico tenían más del doble de probabilidades de ser VEB positivos que los del antro. No se encontró diferencia en la prevalencia de VEB entre tipos histológicos intestinal y difuso, y se confirmó una fuerte asociación (> 90%) del VEB con el carcinoma poco

frecuente tipo linfopitelioma³³. Un estudio multicéntrico reciente sugiere que la positividad del VEB es un indicador pronóstico favorable de supervivencia³⁴.

Una de las observaciones más fuertes que apoyan el papel del VEB como un agente causal es la presencia clonal del virus uniformemente distribuido en todas las células malignas de los tumores VEB positivos. Esto no se observa en las células epiteliales no tumorales que rodean al tumor³⁰. Sin embargo, el papel del VEB en la carcinogénesis gástrica aún no está claramente definido. Entre los factores ambientales y de estilo de vida, el tabaquismo es considerado como un factor de riesgo para el desarrollo de gastritis, úlceras, metaplasia intestinal y cáncer gástrico proximal y distal. Se estima que hasta el 18% de los casos de cáncer de estómago son atribuibles al tabaquismo y hay evidencia que apoya una interacción positiva entre el tabaquismo y la infección por *H. pylori*³⁵.

Entre los factores dietéticos, la alta ingesta de sal se asocia con un mayor riesgo de cáncer gástrico. Un mecanismo propuesto es el daño directo a la mucosa gástrica con posterior respuesta inflamatoria y aumento de la proliferación celular. Además, en presencia de infección por *H. pylori*, este riesgo aumenta. Como un mecanismo asociado con esta interacción, estudios *in vitro* han demostrado una mayor expresión de la proteína oncogénica CagA cuando *H. pylori* se cultiva en medios con altas concentraciones de sal. El análisis de 36 cepas de *H. pylori* demostró una heterogeneidad considerable en la expresión de CagA regulada con sal. Estas diferencias son atribuibles a la variación en un motivo de ADN en la región del promotor *cagA*³⁶. Los niveles de hierro en el huésped también se han asociado con el riesgo de cáncer gástrico. En una población colombiana con alto riesgo de cáncer gástrico, se

encontraron niveles de ferritina sérica significativamente más bajos en sujetos con lesiones precancerosas gástricas avanzadas en comparación con sujetos con gastritis no atópica. Además, los aislamientos de *H. pylori* de sujetos con los niveles más bajos de ferritina mostraron mayor potencial de virulencia *in vitro* que los aislados de pacientes con los niveles más altos de ferritina³⁷.

El consumo de carne es un posible factor de riesgo para el cáncer gástrico. Algunos estudios han encontrado una asociación positiva significativa entre el consumo de carne procesada y el cáncer gástrico. Un estudio europeo a gran escala esta asociación fue más fuerte en los sujetos infectados con *H. pylori*³². Con respecto al consumo de alcohol, los resultados han sido inconsistentes, aunque un metaanálisis reciente encontró asociación positiva entre el consumo excesivo de alcohol y el riesgo de cáncer gástrico³⁸. Un factor asociado con la disminución del riesgo de cáncer gástrico es la ingesta adecuada de frutas y verduras frescas. Se cree que el mecanismo protector está relacionado con la capacidad antioxidante de estos alimentos³⁵.

Entre los factores del huésped, tenemos a los polimorfismos genéticos, ya que una gran variedad de estos se ha asociado con el riesgo de desarrollar cáncer gástrico, principalmente en algunos genes relacionados con la inflamación, como las interleuquina IL-1B, IL-1RN, IL-10 y el factor de necrosis tumoral (TNF). La IL-1 β y el TNF- α son potentes citoquinas pro-inflamatorias con propiedades supresoras para la producción de ácido gástrico. La IL-10 es una citoquina antiinflamatoria que contrarresta los efectos de las citoquinas pro-inflamatorias, y se han identificado variantes en IL-10 que influyen en su producción. La colonización de la mucosa gástrica por *H. pylori* provoca una respuesta inmune que incluye una amplia variedad de citoquinas pro- y

antiinflamatorias. Se cree que la supresión de ácido gástrico causada por IL-1 β y TNF- α favorece la propagación de *H. pylori* desde el antro hasta el cuerpo gástrico y el fundus, lo que conduce a una gastritis más extensa y severa que resulta en atrofia gástrica y posteriormente en cáncer. Los sujetos que portan el alelo IL1B-511T, son altos productores de IL-1 β , y múltiples estudios confirman este polimorfismo como un factor de riesgo para el adenocarcinoma gástrico de tipo intestinal en poblaciones caucásicas, pero no en poblaciones asiáticas^{39,40}.

Los portadores de IL1RN2 de origen no asiático han mostrado un mayor riesgo de adenocarcinoma gástrico (tipos intestinales y difusos) predominantemente para tumores distales⁴⁰. También están asociados con un mayor riesgo de cáncer gástrico: el alelo TNF-308A en las poblaciones caucásicas y el genotipo IL8-251AA en las poblaciones asiáticas. Se ha encontrado un riesgo reducido de cáncer gástrico en portadores de IL1B-31C de origen asiático y en portadores de IL10-592A (incluyendo todos los grupos étnicos). Los estudios de asociación en todo el genoma, un poderoso nuevo enfoque para identificar los loci de susceptibilidad, se utilizan para analizar simultáneamente cientos de miles de polimorfismos de un solo nucleótido en grandes poblaciones. Varios loci de susceptibilidad al cáncer gástrico han sido identificados abriendo nuevas puertas en la investigación del cáncer⁴¹.

El riesgo de desarrollar cáncer gástrico es de dos a diez veces mayor en sujetos con antecedentes familiares³². La mayoría de los casos familiares se consideran esporádicos y parecen estar influidos por factores ambientales compartidos, como la infección por *H. pylori*, la dieta y el estatus socioeconómico. Sin embargo, el cáncer gástrico puede desarrollarse como

parte de los síndromes de cáncer familiar incluyendo el síndrome de cáncer gástrico difuso hereditario, el síndrome de Lynch, la poliposis adenomatosa familiar, el síndrome de Peutz-Jeghers y el síndrome de Li-Fraumeni⁴². El cáncer gástrico difuso hereditario es un trastorno poco frecuente y autosómico dominante que causa el 1-3% de los casos de cáncer gástrico familiar. Este síndrome es causado por una variedad de mutaciones del gen que codifica E-cadherina, una proteína de adhesión celular esencial para el mantenimiento de la arquitectura del tejido epitelial. En presencia de una de estas mutaciones, el riesgo de desarrollar cáncer gástrico durante toda la vida es del 70% al 80%⁴³.

3. *Helicobacter pylori*

H. pylori es una bacteria espiral Gram-negativa con una amplia variedad de mecanismos que permiten la colonización de la mucosa gástrica y la evasión o modificación de la respuesta inmune del huésped⁴⁴. La infección se adquiere generalmente en la niñez y puede persistir durante décadas a menos que el tratamiento y la erradicación de la bacteria se logre. Nadie sabe exactamente como es el mecanismo de transmisión, pero se cree que se adquiere por vía oral de persona a persona. La infección de la mucosa gástrica por *H. pylori* induce una reacción inflamatoria aguda y crónica cuya intensidad depende de factores asociados con el huésped y la bacteria. Se cree que esta reacción inflamatoria prolongada, o gastritis crónica activa, es uno de los principales factores que contribuyen a la transformación maligna del epitelio.

Se han descrito múltiples mecanismos para la carcinogénesis asociada con la inflamación causada por *H. pylori*. Entre ellos, es importante destacar la producción de especies de oxígeno reactivo que conducen al daño oxidativo del ADN y mutaciones, la metilación aberrante del ADN (principalmente la

hipermetilación de las islas CpG en las regiones promotoras de ciertos genes) que conduce al silenciamiento de los genes supresores tumorales.

Existe una gran variedad genética entre las cepas de *H. pylori*, con potencial patogénico y carcinogénico variable, y es posible que un individuo determinado pueda infectarse simultáneamente con múltiples cepas. *H. pylori* está equipado con un número de adhesinas que le permiten adherirse al epitelio gástrico. Esta adhesión es esencial para asegurar la persistencia prolongada de la bacteria en el estómago y para la inyección de CagA y otras proteínas en las células epiteliales, utilizando un sistema de secreción tipo IV. CagA es una proteína oncogénica, un producto del gen bacteriano *cagA*. Este gen es parte de una región de ADN denominada isla de patogenicidad *cag* (*cag* PAI), que no está presente en todas las cepas de *H. pylori* y se considera un marcador de virulencia¹¹. La infección con cepas *cagA*-positivas se asocia con un mayor riesgo de gastritis severa, lesiones gástricas premalignas y cáncer gástrico que la infección con cepas negativas. Casi todas las cepas de Asia oriental son *cagA*-positivas, mientras que un 60-70% lo son el mundo occidental. Se ha observado una mayor prevalencia de cepas *cagA*-positivas en regiones con mayor incidencia de cáncer gástrico⁴⁵.

Después de entrar en las células epiteliales, CagA se fosforila en motivos que contienen la secuencia de aminoácidos EPIYA, lo que desencadena una serie de eventos que conduce a alteraciones morfológicas epiteliales¹¹. Estos motivos EPIYA se clasifican en los tipos A, B, C o D, según los aminoácidos que flanquean la secuencia de EPIYA. El número y el tipo de motivos EPIYA varía entre las cepas de *H. pylori*. En los países occidentales, las cepas tienen tipos EPIYA A, B y C. En los países del este asiático, las cepas contienen

secuencias tipo D en lugar del tipo C. La presencia de más de tres secuencias EPIYA es un factor que aumenta significativamente el riesgo de atrofia gástrica, metaplasia intestinal y cáncer gástrico^{11,46}. Estudios *in vivo* e *in vitro* han demostrado que CagA induce rupturas de las uniones intercelulares epiteliales, pérdida de polaridad epitelial, aumento de la proliferación celular, reducción de la apoptosis y desarrollo de adenocarcinomas¹¹.

Otro gen de *H. pylori* asociado con virulencia es *vacA*, que codifica una toxina bacteriana (VacA) que induce vacuolas citoplasmáticas, poros en las membranas mitocondriales y apoptosis de células epiteliales. A pesar de que todas las cepas de *H. pylori* poseen el gen *vacA*, las variaciones genéticas determinan la actividad funcional de VacA y el riesgo de enfermedad gástrica (Ver Figura 1). Las regiones de mayor variación genética son: la región s (señal) con los alelos s1a, slb, slc o s2; la región m (media) con alelos m1 o m2; y la región i (intermedia) con alelos de tipo i1 o i2. Las cepas VacA s1/m1 o vacA s1/m1/i1 están más asociadas con un mayor riesgo de progresión de lesiones premalignas y con cáncer gástrico que las cepas vacA s2/m2 o vacA s2/m2/i2. Además, ciertas proteínas de adhesión presentes en la membrana externa de algunas cepas de *H. pylori* se asocian con virulencia. BabA (adhesina de unión al antígeno del grupo sanguíneo) está codificada por *babA2*, un gen que no se encuentra en todas las cepas. BabA se adhiere al antígeno del grupo sanguíneo de Lewisb presente en la membrana de las células epiteliales gástricas. La infección con cepas *babA2*-positivas se asocia con un mayor riesgo de adenocarcinoma gástrico¹¹.

La asociación entre la prevalencia de la infección por *H. pylori* y el riesgo de cáncer gástrico parece ser cuestionada en algunas partes del mundo. En

algunos países africanos, la prevalencia de infección por *H. pylori* es muy alta, pero el riesgo de cáncer gástrico es muy bajo, fenómeno llamado enigma africano. Este fenómeno ha sido descrito en otras partes del mundo y ha estimulado numerosos estudios epidemiológicos encaminados a encontrar sus causas. Además, a pesar de su implicación relativamente reciente como agente etiológico del cáncer gástrico y su amplia distribución mundial, menos del 1% de las personas infectadas con *H. pylori* desarrollarán cáncer de estómago. *H. pylori* ha sido parte del microbioma humano desde la antigüedad. Ambas especies (*Homo sapiens* y *H. pylori*) migraron juntos de África hace unos 60.000 años y se extendieron a los otros continentes^{47,48}. Las cepas de *H. pylori* presentan una extraordinaria diversidad genética, debido principalmente a altas tasas de mutación y recombinación genética. Basado en el estudio de secuencias de genes, la creciente variedad de grupos filogenéticos y subgrupos de *H. pylori* se han descrito durante la última década que reflejan las migraciones humanas: hpEurope, hpAfrica1 (incluyendo hspWAfrica y hspSAfrica), hpAfrica2, hpEastAsia (incluyendo hspAmerind, hspEAsia y hspMaori), hpAsia2 y hpSahul21⁴⁴.

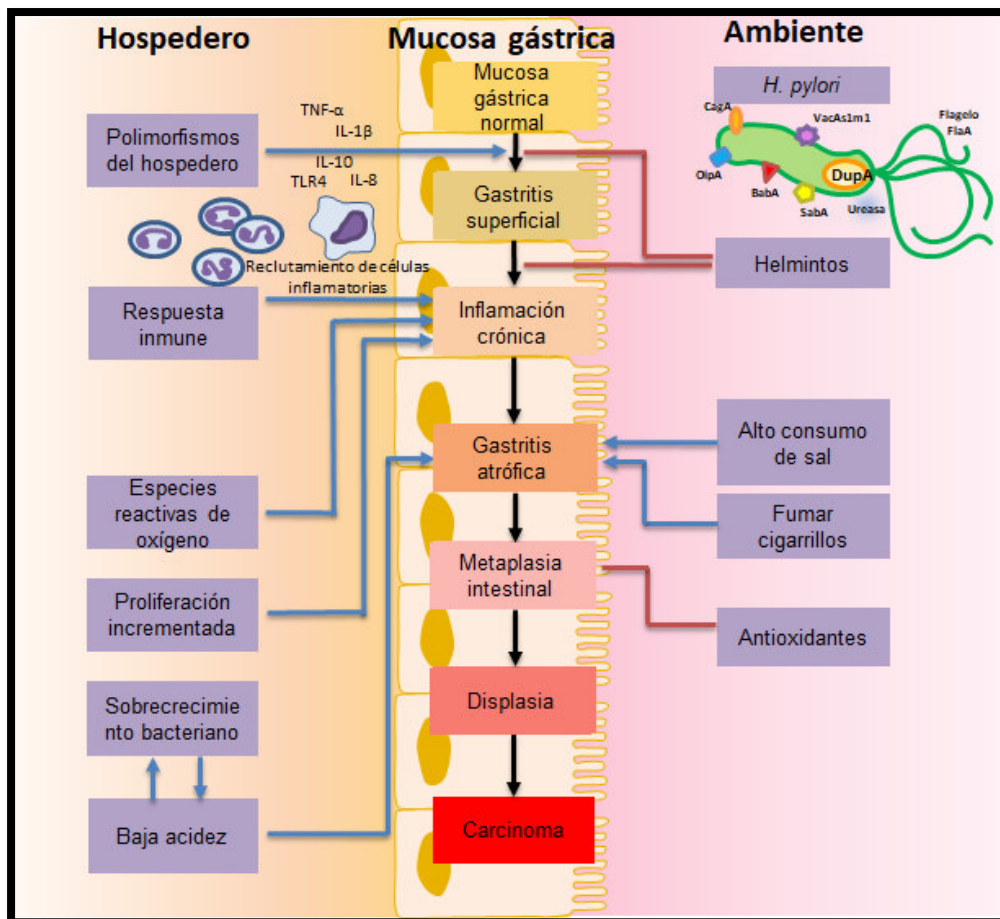


Figura 1.- Factores que influyen en el origen y desarrollo del cáncer gástrico

4. Agua de consumo como vía de infección de *Helicobacter pylori*

El agua de consumo humano se considera una importante vía de infección por *H. pylori*, aunque esto dependerá de la calidad del agua de consumo. Se conoce que el agua puede contaminarse cuando entra al sistema de distribución, debido a rotura o falta de mantenimiento de las cañerías. Por otra parte, el problema también está relacionado con el mal almacenamiento y tratamiento previo del agua antes de su consumo. Partiendo de la problemática relacionada a la contaminación del agua se han desarrollado una variedad de métodos moleculares y ensayos con anticuerpos para detectar la presencia de la bacteria en pozos, ríos, en agua de consumo humano, en biofilms asociados a tanques de almacenamiento de agua y en tuberías de redes de distribución.

Incluso se ha evaluado la sensibilidad y el grado de recuperación de *H. pylori* en matriz de agua potable sugiriéndose que esta matriz no presenta interferencia real, además se ha demostrado su sobrevivencia a la cloración sin encontrarse correlación con niveles de cloro en agua tratada con respecto a la prevalencia de la infección en población de riesgo. No obstante, se ha determinado que el *H. pylori* suspendido en el agua tiene muy bajo poder de cultivo comparado con otros patógenos de origen acuático.

Mientras algunos autores han mencionado que la capacidad de cultivo de *H. pylori* generalmente termina algún tiempo después de su inoculación en el agua. Se ha demostrado la viabilidad y la capacidad de cultivo de *H. pylori* en agua hasta por 75 horas a 10 °C. Así mismo se determinó que el total de células no disminuía por períodos mucho más largos (2 años a 4 °C). Esto plantea interrogantes sobre el estado fisiológico de la bacteria en el agua y la evaluación de los métodos que podrían ser más apropiados para la detección de la bacteria⁴⁹. Por ejemplo, el efecto de choque por nutrientes también fue observado en la recuperación de bacterias bajo estrés en esta matriz mostrando un cierto nivel de *H. pylori* de adaptación a este entorno. En términos generales la adherencia de los microorganismos a las superficies es un importante factor de sobrevivencia que puede influir en la patogenicidad de cepas específicas, y esto es crucial en su epidemiología. El incremento en la capacidad de la adherencia depende en gran medida de la superficie de contacto y del ambiente que le rodea, especialmente si presenta alta humedad. Aquellas cepas que modulan su habilidad para adherirse a diversas células *in vitro* también manipulan su habilidad para causar infección *in vivo* en modelos animales, mediando diversas matrices y adhesinas bacterianas. De esta forma

se defienden del medio ambiente que les rodea, pueden activar genes de respuesta a estrés y cambiar entonces a fenotipos de estrés ambiental⁵⁰. Con un mismo genotipo, la bacteria expresa un distinto patrón de genes y presenta un distinto fenotipo, como por ejemplo alteraciones en el patrón nutricional, densidad celular, temperatura, pH o la osmolaridad. La inanición prolongada induce a la pérdida de capacidad de cultivo en condiciones normales, en estos casos las células permanecerían metabólicamente activas y estructuralmente intactas. En estos biofilms dependiendo de las condiciones ambientales, una misma bacteria puede crecer, sésil adherida a la superficie, o desarrollarse de forma planctónica nadando libremente en el medio líquido. En los biofilms planctónicos las bacterias se encuentran en estado reversible de “viables, pero no cultivables” (VPNC) y se considera la principal razón de la baja tasa de detección de microorganismos en biopelículas por métodos rutinarios de cultivo.

Se ha estudiado la adhesión de *H. pylori* en tanques de almacenamiento de agua de acero inoxidable y de polipropileno, encontrándose que en estas superficies retiene su morfología espiral. Esto es importante por cuanto se podría considerar reservorio en sistemas de distribución de agua. Por mucho tiempo se consideró que muchos de los problemas que se han encontrado en la recuperación de formas viables de *H. pylori* en el agua, se debe a que estas pasan a formas cocoides o VPNC. Desde un punto de vista más amplio, ahora se acepta que lo que ocurre es que estas bacterias no se logran cultivar bajo métodos rutinarios y convencionales de laboratorio. Más aún, se ha demostrado que formas cocoides de *H. pylori* son capaces de colonizar la mucosa gástrica y causar gastritis en ratones⁵¹.

Actualmente se cuenta con evidencia para el reconocimiento del agua de consumo humano en el rol epidemiológico, advirtiéndose directamente que el consumo del agua no tratada debería considerarse un factor de riesgo para la infección en una población dada. Se ha mencionado incluso que en Japón la mayor parte de los casos de transmisión de *H. pylori* es de origen hídrico y que la transmisión está fuertemente asociada con la duración de la ingesta, en la vida de las personas, con respecto al consumo de agua de pozo. La propuesta de modelos a través de su tolerancia en el agua, le confiere características importantes en el ciclo de transmisión, siendo trascendental para una población dada, pues tiene fuertes implicaciones en la salud pública²¹.

5. Aspectos clínicos del cáncer gástrico

5.1. Clasificación anatómica

La clasificación del cáncer gástrico en base a la localización anatómica resulta importante ya que los síntomas del cáncer gástrico (no cardias) y el cáncer de la unión gastroesofágica (cardias) difiere en términos de incidencia, distribución geográfica, causas, curso clínico de la enfermedad y el tratamiento⁵².

Las neoplasias de unión gastroesofágica se clasifican según la clasificación de Siewert: en el carcinoma de cardias (Siewert tipo II) el epicentro del tumor está situado a 1-2 cm por debajo de la zona de unión gastroesofágica; en los carcinomas de adenocarcinomas esofágicos distales (Siewert tipo I) y cánceres gástricos subcardiales (Siewert Tipo III) los epicentros están situados a menos de 1 cm por encima o a menos de 2 cm por debajo de la unión gastroesofágica, respectivamente. Ya sean Siewert tipo II y tipo III, la diferenciación biológica no está clara⁵³.

La clasificación Siewert, no incluye criterios específicos para identificar adenocarcinomas de la unión gastroesofágica. La clasificación TNM cuenta con

categorías simplificadas: si el epicentro del tumor está en el esófago distal, la unión gastroesofágica, o en la unión proximal a 5 cm del estómago, con la masa tumoral extendida en la unión gastroesofágica o en el esófago distal, se clasifica como un carcinoma esofágico; si el epicentro se encuentra dentro de los 5 cm de la zona gastroesofágica pero el tumor no se extiende hacia el interior de la región de la unión gastroesofágica, o si el epicentro es más de 5 cm distal a la unión gastroesofágica, el tumor se clasifica como un carcinoma gástrico⁵³.

5.2. Clasificación histológica

La clasificación 2010 de la OMS reconoce cuatro patrones histológicos de los adenocarcinomas gástricos: tubular, papilar, mucinoso y poco cohesivo (incluyendo el anillo de sello), además de variantes histológicas poco frecuentes. La clasificación se basa en las características histológicas predominantes del carcinoma que a menudo coexiste con menos elementos dominantes de otros patrones histológicos.

El adenocarcinoma tubular es el tipo histológico más común de carcinoma gástrico precoz. El cual tiende a formar polipóides o masas fúngicas de forma macroscópica e histológicamente demuestra irregular distendida, fusionada o ramificada. Los túbulos son de varios tamaños, a menudo con moco intraluminal, nuclear e inflamatoria⁵⁴.

El adenocarcinoma papilar es otra variante histológica, vista a menudo, en el carcinoma gástrico temprano. Tiende a afectar a las personas mayores, ocurren en el estómago proximal, y frecuentemente se asocia con metástasis hepáticas y una mayor tasa de afectación ganglionar. Histológicamente, se

caracteriza por proyecciones epiteliales andamadas por un núcleo central fibrovascular⁵³.

El adenocarcinoma mucinoso representa el 10% de los carcinomas. Histológicamente se caracteriza por la presencia de cúmulos mucinosos que constituyen al menos el 50% del tumor. Las células tumorales pueden formar racismo de células irregulares, con células de anillo de sello dispersas flotando en los cúmulos mucinosos. El carcinoma de células de anillo de sello y los carcinomas cohesivos se componen a menudo de una mezcla de células de anillo de sello y células de anillo sin signo. Pobre cohesión en las células tumorales anulares no sello son aquellas que morfológicamente se parecen a histiocitos, linfocitos y células plasmáticas. Esas células tumorales pueden formar microtrebáculas irregulares o glándulas abortivas tipo encaje, a menudo acompañadas de desmoplasia en la pared gástrica y con una depresión o una superficie ulcerada. Cuando se produce en la región antropylorica con afectación serosa, el carcinoma tiende a tener invasión linfovascular y metástasis ganglionar. Debido a que la celda de anillo de sello y otros carcinomas no cohesivos en la región antropylorica tienen una propensión a invadir el duodeno a través de las rutas submucosas y suberosas incluyendo los espacios submáscicos y submucosos, se debe prestar especial atención a esas rutas cuando se solicita una sección congelada de margen distal en el momento de la resección quirúrgica. Manchas especiales como citoqueratina en inmunohistoquímica puede ayudar a detectar morfológicamente las células de anillo de sello ocultas. El diagnóstico diferencial importante del anillo de sello neoplásico en la mucosa gástrica son las células benignas del pseudo anillo de sello. Que puede imitar notablemente el carcinoma de células de anillo

de sello. Esas células de pseudo anillo de sello pueden demostrar atipia citológica, incluso con mitosis. Sin embargo, esas células de pseudo anillo de sello no revelan el patrón invasivo con tinción de reticulina que destaca las pseudo células de anillo de sello confinadas con la membrana con arquitectura acinar intacta⁵⁴.

III. PARTE EXPERIMENTAL

3.1. Identificación de los pacientes con cáncer gástrico

Se elaboró un listado de pacientes con diagnóstico de cáncer gástrico, mediante la revisión de las historias clínicas de los pacientes atendidos en el Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas en el periodo 2015-2016. Los criterios de inclusión para la selección fueron:

- Pacientes con diagnóstico de adenocarcinoma gástrico.
- Pacientes a los que se les ha realizado gastrectomía parcial o radical por el Departamento de Cirugía de Abdomen o biopsia gástrica por el Departamento de Endoscopia de INEN.
- Pacientes que residan en Lima Metropolitana.
- Pacientes que acepten firmar el consentimiento informado para la toma de muestra de un volumen de 2 litros de agua de consumo humano de su domicilio.

Los criterios de exclusión para la selección fueron:

- Pacientes con historial de otra neoplasia previa.
- Pacientes con diagnóstico de adenocarcinoma gástrico, pero con cirugía o biopsia sin éxito (sin resección de tejido).
- Pacientes con infección activa de HIV, HBV o HCV
- Pacientes que no acepten firmar el consentimiento informado para la toma de muestra de un volumen de 2 litros de agua de consumo humano de su domicilio.

Posteriormente, los pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión y ninguno de exclusión fueron registrados en una base de datos usando el programa Excel (Microsoft Corporation, EE. UU.).

3.2. Elaboración de Encuesta a los pacientes

A los pacientes identificados, durante la toma de la muestra de agua en sus domicilios se les realizó una encuesta (Anexo 3) donde se preguntaba información relacionada a sus hábitos en el consumo de agua, para poder relacionar aquellas condiciones de distribución de agua que poseen en sus domicilios y relacionarlos con los resultados de la presencia de *H. pylori* en sus domicilios. Las variables incluidas en la encuesta fueron: lugar de nacimiento, sexo, edad, lugar de residencia en el domicilio actual, tiempo de permanencia en el lugar de residencia, tipo de abastecimiento de agua, tipo de consumo de agua, antecedentes de enfermedad gástrica e indicios de familiares con enfermedades gástricas historial hospitalario de cada paciente.

3.3. Toma de muestra de agua

Se contactó a los pacientes y/o familiares para proceder a obtener el consentimiento y coordinar la recolección de la muestra de agua de los respectivos domicilios.

Durante el proceso de toma de muestra de agua, se realizaron las encuestas para la obtención de información sobre los hábitos y rutinas en el consumo de agua. Se tomó un volumen de 2 litros de agua en botellas estériles descartables para evitar cualquier tipo de contaminación externa. Estas fueron transportadas al Laboratorio de Biología Molecular de Banco de Tejidos Tumorales del Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas en el transcurso de dos horas posteriores a la toma de la muestra.

3.4. Procesado de muestra de agua

Las muestras de agua fueron procesadas en un sistema de filtrado al vacío (Stericup SCVPU11RE, Millipore y Chemical duty pump WP6111560, Millipore), en el cual se buscó la adherencia de la bacteria (Ver figura 2), o los residuos del ADN de esta, en un filtro de poliestersulfona (PES) con una porosidad de 0,10 μm , con el cual se trabajó el proceso de recuperación de la bacteria. (Anexo 2)

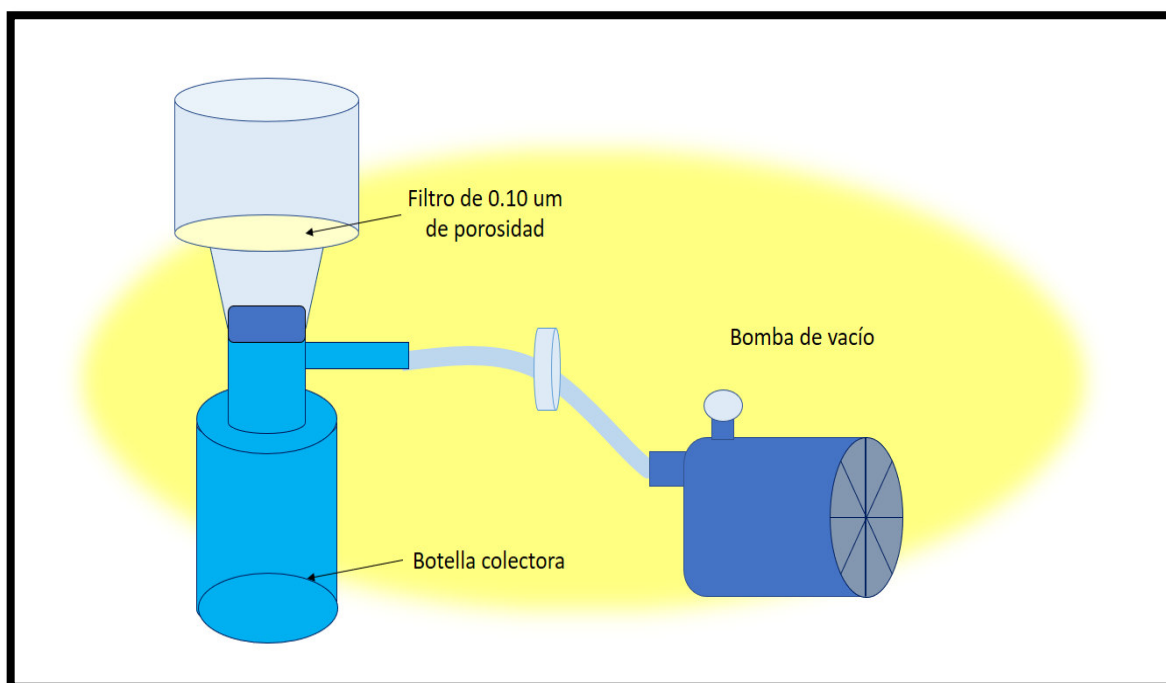


Figura 2.- Sistema de filtrado al vacío: filtro con tamaño de poro de 0.10 μm y bomba de vacío.

3.5. Detección del *Helicobacter pylori* en las muestras de agua

Para evaluar la presencia del *H. pylori* en las muestras de agua se utilizó el método de qPCR, por lo tanto, el proceso se dividió en dos partes: extracción de ácidos nucleicos y cuantificación de ácidos nucleicos. Antes del proceso de extracción de ácidos nucleicos, el filtro obtenido anteriormente, se sometió a un

raspado y 3 lavados con 10 mL buffer PBS + Tween 20, con la finalidad de recuperar la bacteria (Ver figura 3), o los restos de esta, el sobrenadante final de 30 mL se centrifugo a 7500 rpm durante 10 min., se descartó el sobrenadante y se resuspendió el pellet obtenido con 800 µL de buffer TE 1X para una última centrifugación de 7500 rpm durante 10 min, posteriormente se descartan 750 uL del sobrenadante y se procede a trabajar con los 50 µL obtenidos luego de la centrifugación anterior (Ver figura 4)

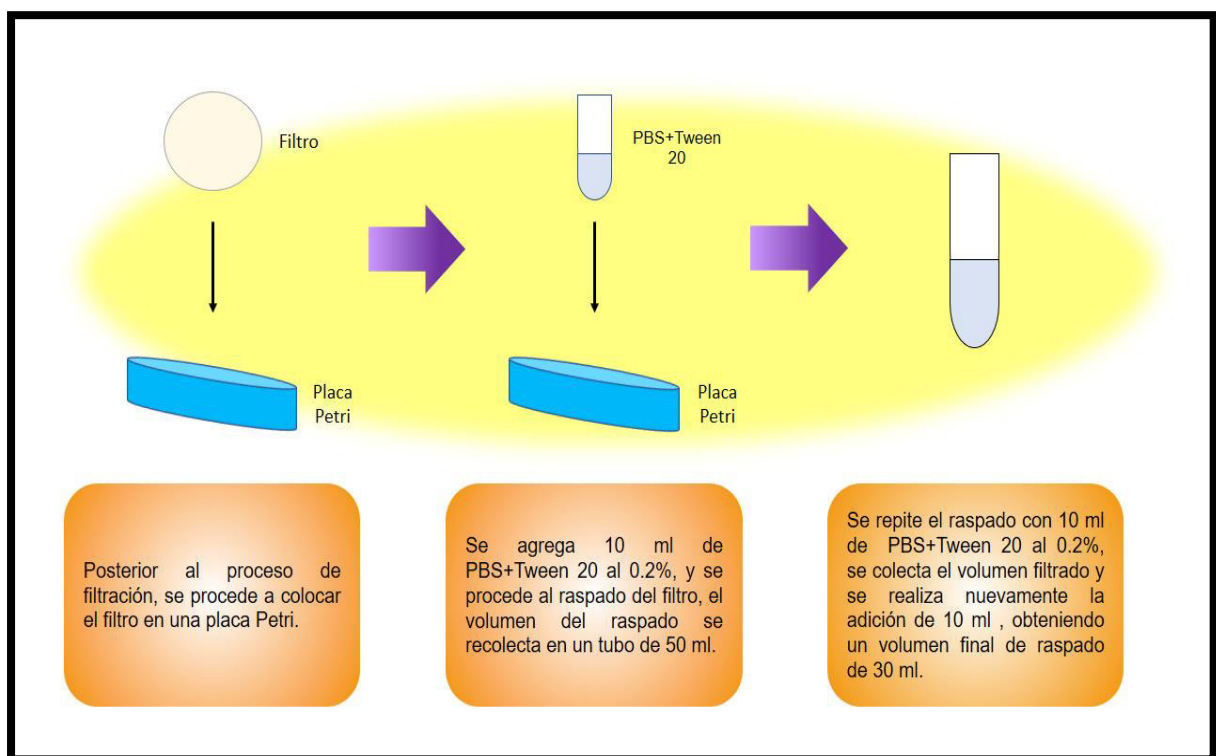


Figura 3.-Procedimiento de extracción y raspado del filtro.

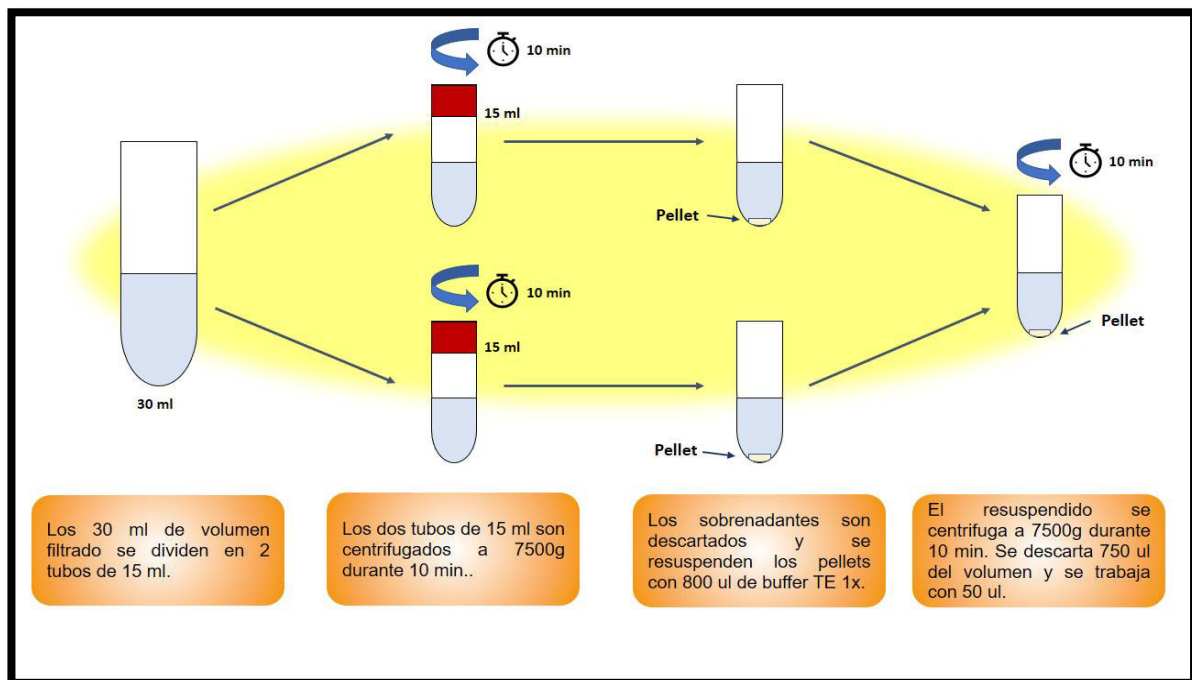


Figura 4.-Centrifugación y resuspensión del pellet obtenido

3.6. Extracción de ADN bacteriano

Para la extracción de DNA se utilizó el kit comercial GenElute Bacterial Genomic DNA kit (Sigma). Se trabajó con los 50 µL obtenidos anteriormente, los cuales son resuspendidos en 180 µL de Lysis solution T y 20 µL de proteinasa K, esta mezcla se incubó durante 33 min en un termobloque a 55 °C. Luego se agregó 200 µL de Lysis Solution C, y se mezcló en vórtex durante 15 seg. y se volvió a incubar por 10 min. a 55°C, obteniéndose una mezcla homogénea. Se agregó 200 µL de EtOH (95%-100%) al lisado y se mezcló en vórtex durante 5-10 seg. Se transfirió la mezcla homogénea a la columna (acoplada con el tubo colector) usando una pipeta, para evitar la pérdida de la mezcla al transferirla. Se centrifugó la columna a 8000 rpm durante 1 min., y se descartó el contenido del tubo colector. Se agregó 500 µL del Wash Solution 1 a la columna y se centrifugó a 8000 rpm durante 1 min. Posteriormente se agregó 500 µL de Wash Solution a la columna y centrifugar durante 3 minutos a la máxima velocidad (8000 rpm) para lavar la columna y se descartó el

filtrado. Se colocó la columna en un nuevo tubo colector y se agregó 200 µL del Elution Solution, en el centro de la columna, se dejó en reposo a temperatura ambiente durante 5 min y luego se centrifugó a 8000 rpm durante 1 minuto. Finalmente se descartó la columna, y se trabajó con el volumen de líquido colectado.

3.7. Cebadores

Los genes de factores de colonización fueron: ureA del gen de Ureasa, R-(TTGTCTGCTTGTCTATCAACC) y F-(GAGAATGAGATGAAACTCACCC); hspA del gen codificante de la proteína de shock térmico, R-(GCTATCTGAAAATTTGATTTCTTTTGC) y F-(TGCGCTATAGTTGTGTGCGC).

3.8. PCR a tiempo real

La detección de los genes constitutivos, HspA y ureasa, de *H. pylori* se realizó en el equipo Real time PCR LightCycler® 96 Instrument (ROCHE) Las reacciones en presencia de las muestras se realizaron usando 20µL FastStart Essential DNA Green Master Mix 2X de Roche®, 1.8 µL de agua libre de nucleasas, 1.6 µL de cada cebador (Sentido y Antisentido en concentraciones de 10µM) y el molde de ADN de las muestras de agua 40 µL por reacción). Se realizó una repetición de la reacción por muestra, registrándose 2 resultados por muestra de agua.

3.9. Condiciones de la PCR

La detección de la señal se realizó al finalizar el paso de elongación de la reacción. Las condiciones de la qPCR fueron: (i) 95°C 10min; y (ii) 95°C 15s, 60°C 20s, 72°C 20s (45 ciclos). La temperatura de fusión (T_m (50mN Na⁺))

varió dependiendo del cebador utilizado en la qPCR de la siguiente manera: ureA del gen de Ureasa, R (55°C) y F (58°C); hspA del gen codificante de la proteína de shock térmico, R (62°C) y F (59°C).

Todas las reacciones incluyeron un control, donde la muestra se sustituyó por agua. Para garantizar la funcionabilidad de los cebadores se realizaron pruebas de estandarización. Como control positivo se empleó ADN genómico (ADNg) de la cepa 706557 de *H. pylori* obtenida de la ATCC.

Los resultados de la PCR fueron visualizados en el *Software LightCycler® 96 Instrument Manager versión SW 1.1 (Roche)*.

Los datos obtenidos en estas reacciones en el PCR tiempo real se organizaron en una hoja de cálculo de Excel 2010 (*Microsoft Office Professional Plus 2010*) obteniendo los valores logarítmicos de la concentración de las 20 diluciones del control positivo y los valores promedios de los ciclos de cuantificación (Cq). Estos datos permitieron la construcción de una curva de regresión lineal y una ecuación para calcular concentraciones de cada gen.

Los resultados de las muestras procesadas en el PCR en tiempo real se transfirieron y organizaron en hojas de cálculo Excel. Se despejaron las ecuaciones para cada gen obtenidas en las curvas de estandarización y se sustituyeron los datos de Cq para obtener el logaritmo de las concentraciones obtenidas. Se realizaron cálculos anti-logarítmicos para obtener las concentraciones reales en nanogramos (ng) y luego se transformaron a picogramos (pg).

IV. RESULTADOS

Tabla 1.- Características demográficas y características de la obtención y consumo de agua de la población en estudio

CP	HC	Fecha Nacimiento	Lugar Nacimiento	Sexo	Sector de Lima	Tiempo de permanencia en el lugar	Tipo de abastecimiento de agua	Agua de consumo
RGZ-1725	579790	10/15/1931	PIURA	M	Lima Sur	>10 años	Potable	Agua hervida
SCV-1709	576252	2/19/1940	CAJAMARCA	M	Lima Norte	>10 años	Potable	Doméstica sin filtro
LOL-1707	560997	5/8/1937	AYACUCHO	F	Lima Sur	>10 años	Cisterna	Doméstica sin filtro
LOF-1719	574721	3/11/1956	LIMA	F	Callao	>10 años	Potable	Doméstica sin filtro
TNT-1728	576502	12/21/1949	CAJAMARCA	M	Lima Norte	<5 años	Potable	Agua hervida
RNV-1745	576520	2/10/1987	LIMA	F	Lima Este	>10 años	Potable	Agua hervida
APC-1750	582227	2/15/1956	PASCO	F	Lima Este	>10 años	Potable	Agua hervida
TCA-1754	581314	12/21/1935	HUÁNUCO	F	Lima Norte	>10 años	Potable	Agua hervida
WMR-1757	577600	9/28/1953	HUÁNUCO	M	Lima Centro	>10 años	Potable	Agua hervida
MAV-1758	583163	4/13/1961	LIMA	M	Lima Centro	>10 años	Potable	Agua hervida
IVF-1747	579499	4/5/1953	ICA	F	Lima Norte	>10 años	Potable	Agua hervida
ETS-1716	577542	7/15/1946	LIMA	F	Lima Centro	>10 años	Potable	Agua hervida
LSL-1715	578251	11/9/1962	LIMA	F	Lima Sur	>10 años	Potable	Agua hervida
ECC-1768	580395	3/16/1951	LIMA	M	Lima Sur	>10 años	Potable	Agua hervida
EAC-1797	581746	11/26/1943	LIMA	M	Lima Norte	>10 años	Potable	Agua hervida
FGT-1795	580937	12/15/1940	LIMA	M	Lima Norte	>10 años	Pozo	Agua hervida
TVM-1810	583221	3/5/1950	APURIMAC	F	Lima Sur	>10 años	Potable	Agua hervida
MBR-1816	583004	4/28/1943	AMAZONAS	F	Lima Centro	>10 años	Potable	Agua hervida
EBC-1817	582320	4/8/1953	PASCO	F	Lima Este	>10 años	Potable	Agua hervida
JRA-1814	582883	3/27/1959	APURIMAC	M	Lima Este	>10 años	Potable	Agua hervida
EEC-1821	583643	7/3/1953	AYACUCHO	F	Lima Norte	>10 años	Potable	Agua hervida

FBC-1820	577832	5/30/1940	HUÁNUCO	M	Callao	>10 años	Potable	Doméstica sin filtro
MSC-1823	580993	2/19/1966	AYACUCHO	F	Lima Centro	>10 años	Potable	Agua hervida
BZS-1829	582249	2/27/1953	LIMA	M	Lima Sur	>10 años	Potable	Doméstica con filtro
CMR-1828	584708	1/17/1948	HUANCAVELICA	F	Lima Sur	>10 años	Cisterna	Agua hervida
JME-1843	585922	2/7/1971	LIMA	M	Lima Este	<5 años	Potable	Agua hervida
RQP-1844	581475	10/22/1945	CAJAMARCA	M	Lima Sur	>10 años	Potable	Doméstica con filtro
ACB-1842	584731	7/24/1935	JUNIN	M	Lima Norte	>10 años	Potable	Agua hervida
RMC-1849	587602	6/20/1954	LA LIBERTAD	F	Lima Sur	>10 años	Potable	Agua hervida
IAQ-1858	587240	3/8/1965	LA LIBERTAD	F	Lima Norte	>10 años	Potable	Agua hervida
SCL-1884	585630	7/20/1996	CAJAMARCA	F	Lima Norte	<5 años	Potable	Agua hervida
ESC-1903	590511	7/24/1974	CAJAMARCA	M	Lima Sur	>10 años	Potable	Agua hervida
SCU-1915	588121	5/1/1952	LAMBAYEQUE	F	Lima Norte	5-10 años	Potable	Agua hervida
MNR-1924	589291	9/8/1940	AYACUCHO	F	Lima Sur	>10 años	Potable	Agua hervida
DCF-1824	578569	11/9/1951	LIMA	F	Lima Este	>10 años	Potable	Agua hervida
LED-1942	589591	10/10/1938	HUANCAVELICA	F	Lima Este	>10 años	Potable	Doméstica con filtro
MRS-1940	592648	5/2/1921	LIMA	F	Lima Este	>10 años	Potable	Agua hervida
JJC-1948	590826	4/23/1944	ICA	M	Lima Sur	>10 años	Potable	Agua hervida
JMC-1953	589864	10/3/1945	JUNIN	M	Lima Este	>10 años	Potable	Agua hervida
DCN-1955	588128	8/31/1958	PIURA	F	Lima Centro	<5 años	Potable	Agua hervida
JPC-1961	590802	6/24/1932	AYACUCHO	F	Lima Sur	>10 años	Potable	Agua hervida
RAG-1964	589230	4/15/1974	LORETO	F	Callao	>10 años	Potable	Agua hervida
JFR-1963	590738	12/31/1954	LIMA	M	Lima Sur	>10 años	Potable	Agua hervida
IPR-1981	588074	10/29/1952	PIURA	F	Callao	>10 años	Potable	Agua hervida
DPT-1984	593949	10/24/1988	SAN MARTIN	M	Lima Sur	<5 años	Potable	Agua hervida
MBT-1946	593528	12/5/1965	CAJAMARCA	F	Lima Este	5-10 años	Potable	Agua hervida
LRM-1952	594432	8/29/1927	LIMA	F	Lima Sur	>10 años	Potable	Agua hervida
CFM-2013	594135	4/26/1946	LIMA	M	Lima Este	>10 años	Potable	Agua hervida
SMC-2052	594494	3/25/1966	LIMA	M	Lima Centro	>10 años	Potable	Agua hervida

MFR-2064	590820	6/4/1958	LIMA	F	Lima Centro	>10 años	Potable	Embotellada
CLF-2074	597488	11/29/1934	ICA	F	Lima Centro	>10 años	Potable	Agua hervida
GUM-2077	593645	9/23/1959	CAJAMARCA	M	Lima Sur	>10 años	Potable	Agua hervida
MLZ-2085	596939	6/6/1941	AREQUIPA	F	Lima Sur	>10 años	Potable	Agua hervida
AAR-2101	595029	6/4/1980	LIMA	M	Lima Sur	>10 años	Potable	Agua hervida
EGC-2126	597872	10/20/1957	LIMA	M	Lima Centro	5-10 años	Potable	Agua hervida
VMC-2136	596986	2/26/1968	LIMA	F	Lima Norte	>10 años	Potable	Agua hervida
MCS-2157	598047	7/6/1940	LIMA	F	Lima Centro	5-10 años	Potable	Agua hervida
JSA-2159	600276	12/25/1952	JUNIN	M	Lima Este	>10 años	Potable	Agua hervida
RRN-2160	601497	9/1/1964	LIMA	F	Lima Norte	>10 años	Potable	Agua hervida
MZL-2177	601732	11/11/1953	CUSCO	M	Lima Este	>10 años	Potable	Agua hervida
CRV-2180	601355	10/25/1953	LAMBAYEQUE	M	Lima Centro	>10 años	Potable	Agua hervida
SRR-2270	601500	11/29/1982	CAJAMARCA	F	Lima Norte	>10 años	Potable	Agua hervida
JSC-2296	602370	11/27/1947	LIMA	M	Callao	>10 años	Potable	Agua hervida
AZL-2372	603860	1/19/1943	JUNIN	M	Lima Sur	>10 años	Potable	Agua hervida
EGG-2379	604245	11/12/1951	ANCASH	M	Callao	>10 años	Potable	Agua hervida
NSS-2387	603216	10/28/1950	AYACUCHO	F	Lima Centro	5-10 años	Potable	Agua hervida
ZHZ-2391	602843	8/29/1934	AYACUCHO	M	Lima Este	>10 años	Potable	Embotellada
CHU-2413	605039	11/13/1962	ICA	M	Callao	5-10 años	Potable	Embotellada
TRB-2425	604227	6/4/1953	ANCASH	M	Callao	>10 años	Potable	Agua hervida
ACM-2443	604712	12/1/1933	AREQUIPA	M	Lima Sur	>10 años	Potable	Agua hervida
TRR-2495	601927	8/21/1962	SAN MARTIN	M	Lima Norte	<5 años	Potable	Embotellada
JRS-2508	601599	5/30/1966	LIMA	F	Lima Este	>10 años	Potable	Agua hervida
NNF-2513	604838	9/10/1953	ICA	M	Lima Norte	>10 años	Potable	Agua hervida
ERM-2514	593661	8/12/1923	HUANCAMELICA	F	Lima Este	>10 años	Potable	Agua hervida
FRH-2539	602388	12/17/1965	JUNIN	F	Callao	>10 años	Cisterna	Agua hervida
EAL-2627	604905	5/12/1982	CAJAMARCA	F	Lima Sur	>10 años	Potable	Agua hervida

CCM-2645	605217	3/25/1937	LAMBAYEQUE	M	Lima Centro	>10 años	Potable	Agua hervida
ECC-2665	605153	9/22/1982	LIMA	M	Lima Sur	>10 años	Potable	Embotellada
NRR-2824	597954	6/20/1954	AREQUIPA	M	Callao	>10 años	Potable	Agua hervida
VFB-2867	607448	1/6/1961	LAMBAYEQUE	M	Lima Centro	<5 años	Potable	Agua hervida
ECP-2868	605225	2/12/1937	JUNIN	M	Lima Este	>10 años	Potable	Doméstica sin filtro
PMD-2989	607134	12/19/1948	CAJAMARCA	M	Lima Norte	>10 años	Potable	Agua hervida
RCR-3165	609955	10/24/1945	HUANUCO	M	Lima Norte	>10 años	Potable	Agua hervida
JVC-3322	612215	8/24/1942	LAMBAYEQUE	M	Lima Sur	>10 años	Potable	Agua Hervida

4.1 Descripción de las características demográficas:

Tabla 2.- Características demográficas de la población en estudio

Característica	n=84	%
Edad		
≤50	12	14.29
>50	72	85.71
Sexo		
Femenino	40	47.62
Masculino	44	52.38
Localización		
Lima norte	18	21.43
Lima centro	15	17.86
Lima sur	24	28.57
Lima Este	17	20.24
Callao	10	11.9
Lugar de nacimiento		
Lima	25	29.76
Provincia	59	70.24
Tiempo de permanencia en el lugar		
<5 años	7	8.33
5-10 años	6	7.14
>10 años	71	84.52

La población de estudio estuvo conformada por 84 muestras de agua que corresponden a 84 pacientes con diagnóstico de cáncer gástrico. De la población en estudio el 47.62 % eran mujeres y el 52.38 % eran varones. Todos los pacientes en estudio residían actualmente en Lima, pero el 70.24% de ellos habían nacido en provincia y el 29.76% eran nacidos en Lima. Lima sur fue la zona en la cual se encontraba la mayor cantidad de pacientes con diagnóstico de cáncer gástrico con un 28.57%, seguida de Lima norte y Lima este con 21.43% y 20.24% respectivamente. Se documentó que el 84.52% de los pacientes venían residiendo en sus hogares un tiempo mayor a 10 años, y sólo el 8.33% residían en su domicilio actual un tiempo no mayor a 5 años.

Tabla 3.- Tipo de abastecimiento de agua y tipo de agua de consumo

Característica	n=84	%
Tipo de abastecimiento de agua		
Potable	80	95.24
Cisterna	3	3.57
Pozo	1	1.19
Agua de consumo		
Embotellada	5	5.95
Agua hervida	71	84.53
Agua doméstica c/ filtro	3	3.57
Agua doméstica s/ filtro	5	5.95

De la población en estudio, el 95.24% (80) contaban con distribución de agua potable, el 3.57%(3) compraban agua de cisterna y el 1.19% (1) aún contaba con agua de pozo. Gran parte de la población en estudio consumía agua hervida (84.53%), seguida de agua embotellada (5.95%) y agua de grifo sin filtro (5.95%).

4.2 Descripción de antecedentes clínicos

Tabla 4.- Antecedentes patológicos

Antecedentes	n=84	%
Gastritis		
No	55	65.48
Sí	29	34.52
Úlcera		
No	80	95.24
Sí	4	4.76
Problemas gástricos permanentes		
No	76	90.48
Sí	8	9.52

De la población en estudio 34.52% (29) presentaron gastritis como antecedente, 4.76% (5) presentaron úlcera gástrica como antecedente y el 9.52 (8) presentaron problemas gástricos permanentes, todo esto previo al diagnóstico de cáncer gástrico.

4.3 Descripción de características patológicas

Tabla 5.- Características patológicas

Característica	n=84	%
Subtipo histológico		
Intestinal	15	17.86
Difuso	14	16.67
Otros	16	19.05
Mixto	8	9.52
Indiferenciado	1	1.19
Desconocido	30	35.71
Ubicación del tumor		
Antro	54	64.29
Cuerpo gástrico	18	21.43
Curvatura menor	0	0
Curvatura mayor	2	2.38
Fondo	5	5.95
Otros	5	5.95
Bormann		
I	5	5.95
II	11	13.09
III	42	50
IV	13	15.48
V	2	2.38
Desconocido	11	13.09
Cruza unión gastroesofágica		
No	71	84.52
Si	1	1.19
Desconocido	12	14.29
Ganglios		
Positivo	50	59.52
Negativo	23	27.38
Desconocido	11	13.1
Nódulo satélite		
No	68	80.95
Si	4	4.76
Desconocido	12	14.29
Estadio clínico		
I	9	10.71
II	14	16.67
III	16	19.04
IV	41	48.81
Desconocido	4	4.76
Hallazgos patológicos		

Displasia de alto grado	1	1.19
Displasia de bajo grado	2	2.38
Gastritis crónica	18	21.42
Metaplasia intestinal	31	36.9
Pólipo intestinal	2	2.38
Desconocido	30	35.71
Subtipo histológico OMS		
Adenocarcinoma	3	3.57
Adenocarcinoma mixto	14	16.67
Adenocarcinoma mucinoso	3	3.57
Adenocarcinoma pobremente cohesivo	31	36.9
Adenocarcinoma tubular	29	34.52
Carcinoma indiferenciado	1	1.19
Tumor neuroendocrino	1	1.19
Otro	1	1.19
Desconocido	1	1.19
Grado histológico		
G1	12	14.29
G2	18	21.43
G3	35	41.67
G4	0	0
Indiferenciado	1	1.19
Desconocido	18	21.42
Invasión linfovascular		
No	24	28.57
Si	46	54.76
Indeterminado	2	2.38
Desconocido	12	14.29
Infiltración OMS		
Tumor invade submucosa	10	11.9
Tumor invade subserosa	9	10.71
Tumor penetra serosa	27	32.14
Tumor invade estructuras adyacentes	32	38.1
Desconocido	6	7.14

Los subtipos histológicos que se presentaron con mayor frecuencia en la población de paciente fue el subtipo intestinal y el subtipo difuso con 17.86% y 16.67%, respectivamente. La ubicación del tumor gástrico en los pacientes se presentó en mayor frecuencia en el antro del estómago (64.29%), seguido del cuerpo gástrico (21.43%). Para la clasificación de Bormman, se encontró que el 15.48% de los pacientes presentaban grado IV.

De los pacientes en estudio, en solo un caso se confirmó que el tumor cruzó la unión gastroesofágica (1.19%). La presencia de ganglios se evidenció en 50 casos (59.52%), y no se encontraron ganglios en 23 casos (27.38%). Se evidencio presencia de nódulo satélite en 4 casos lo que representa el 4.76% del total de la población en estudio. El 48.81% de los pacientes fueron clasificados como estadio clínico IV, es decir fueron diagnosticados en una etapa muy avanzada del cáncer gástrico. En 31 pacientes (36.9%) se encontró metaplasia intestinal y en 18 pacientes (21.42) se encontró gastritis crónica. El 36.9% de la población, poseía un tumor gástrico de subtipo histológico adenocarcinoma pobremente cohesivo, seguido del subtipo adenocarcinoma tubular con 34.52%. El grado histológico que se presentó con mayor frecuencia en tumores gástricos fue el G3 con 41,67%, seguido de G2 con 21.43%. De la población en estudio el 54.76% de los pacientes presentaban invasión linfovascular, por otra parte, el 28.57 no presentaba invasión linfovascular. Según la clasificación de infiltración de la WHO, el 38.1% de los pacientes presentó invasión de estructuras adyacentes y 32.14% presentó penetración de la serosa.El 47.62 de los pacientes presentó invasión perineural y el 82.14% de los pacientes presentaban margen quirúrgico comprometido.

Tabla 6.- Tipo de cirugía, tratamiento recibido, presencia de metástasis y estatus

Característica	n=84	%
Tipo de cirugía		
Gastrectomía subtotal	4	4.76
Gastrectomía subtotal distal radical	45	53.57
Gastrectomía total	18	21.43
Gastrectomía total radical	5	5.95
Gastroscoopia	12	14.28
QT		
No	62	73.81
Si	22	26.19
RT		
No	84	100
Si	0	0
Metástasis		
Si	9	10.71
No	75	89.29
Estatus		
Muerto	16	19.05
Vivo	68	80.95

De acuerdo con las dimensiones y el estadio del tumor gástrico, el 53.57% de los pacientes fueron sometidos a Gastrectomía subtotal distal radical y el 21.43%, fueron sometidos a gastrectomía total. En 12 casos (14.28%), sólo se realizó gastroscopia. Sólo el 26.19% de la población de pacientes recibió QT postoperación y ningún paciente recibió RT. El 10.71% de los pacientes desarrolló metástasis. A junio del 2017 el 80.95% de la población estaban vivos y el 19.05% ya estaban fallecidos.

Tabla 7.- Evaluación patológica de *H. pylori* en población de estudio.

Característica	n=84	%
<i>H. pylori</i> Patológico		
Negativo	32	38.1
Positivo	46	54.76
No evaluable	6	7.14

Ubicación de <i>H. pylori</i>		
Negativo	32	38.1
Positivo	46	
Antro	18	21.43
Cuerpo gástrico	28	33.33
No evaluable	6	7.14

Según la evaluación patológica se encontró que el 54.76% de la población presentaba *H. pylori* positivo, mientras que fue negativo en el 38.1% y no fue evaluable en el 7.14% de los casos. En los casos positivos de *H. pylori*, se observó que este se ubicó en un 21.43% en la zona del antro del estómago y en un 33.33% en el cuerpo gástrico.

Tabla 8.- Evaluación molecular de *H. pylori* en muestra gástrica población de estudio

Característica	n=84	%
<i>Helicobacter pylori</i> en muestra gástrica		
Positivo	79	94.05
Negativo	5	5.95

Con información previa de la evaluación molecular de *H. pylori* en muestras gástricas de los 84 pacientes considerados como población de estudio, se confirmó la presencia de *H. pylori* en 79 de ellos

Tabla 9.- Características demográficas de pacientes con resultado de *H. pylori* positivo en agua de su domicilio.

	n=84			
Característica	Negativo (n ₁ =74)		Positivo (n ₂ =10)	
Edad	Cantidad	%	Cantidad	%
≤50	11	14.86	1	10
>50	63	85.14	9	90
Sexo				
Femenino	34	45.95	6	60
Masculino	40	54.05	4	40

Localización				
Lima norte	18	24.32	0	0
Lima centro	14	18.92	1	10
Lima sur	21	28.38	3	30
Lima Este	13	17.57	4	40
Callao	8	10.81	2	20
Agua de consumo				
Embotellada	4	5.41	1	10
Agua hervida	62	83.78	9	90
Agua doméstica c/ filtro	3	4.05	0	0
Agua doméstica s/ filtro	5	6.76	0	0

De las 84 muestras de agua se obtuvo resultado positivo a la presencia de *H. pylori* en 10 de ellas. Se revisó la información clínica de los pacientes que residían en los domicilios con resultado positivo encontrándose que: 9 de 10 eran mayores de 50 años y 6 de 10 eran de género femenino. Se encontró también que la zona de Lima Este presentó el 40% de los casos positivos para la presencia de *H. pylori*, seguido de Lima Sur con el 30%. También se encontró que el 90% de los pacientes consumía agua hervida, lo cual mejora la calidad del agua de consumo teniendo en cuenta que existe la presencia de *H. pylori* en ella.

Tabla 10.- Características patológicas de los pacientes con resultado de *H. pylori* positivo en agua de su domicilio.

Característica	Negativo (n ₁ =74)		Positivo (n ₂ =10)	
Ubicación del tumor				
Antro	49	66.22	5	50
Cuerpo gástrico	15	20.27	3	30
Curvatura menor	0	0	0	0
Curvatura mayor	1	1.35	1	10
Fondo	4	5.41	1	10

Otros	5	6.76	0	0
Estadio clínico				
I	8	10.81	1	10
II	11	14.86	3	30
III	15	20.27	1	10
IV	37	50	4	40
Desconocido	3	4.05	1	10
Metástasis				
Si	7	9.46	2	20
No	67	90.54	8	80
<i>H. pylori</i> Patológico				
Negativo	29	29.19	3	30
Positivo	40	54.05	6	60
No evaluable	5	6.76	1	10
Ubicación de <i>H. pylori</i> Patológico				
Negativo	29	39.19	3	30
Positivo				
Antro	16	21.62	2	20
Cuerpo gástrico	24	32.43	4	40
No evaluable	5	6.76	1	10
<i>H. pylori</i> en muestra gástrica				
Positivo	69	93.24	10	100
Negativo	5	6.76	0	0

De los pacientes en los cuales se encontró *H. pylori* en el agua de sus domicilios, se evidenció que el 50% presento el tumor gástrico en la zona del antro del estómago, y el 40% de ellos, tuvo un diagnóstico de cancer gástrico estadio IV, al momento de ingresar al INEN. Se confirmó que el 80% de ellos presentaron metástasis. Mediante la evaluación patológica de los casos archivados en el Departamento de Patología del INEN, se pudo confirmar la presencia de *H. pylori* en 6 de los 10 casos, de los cuales 4 se ubicaban en la zona del cuerpo gástrico. Mediante la comparación con los resultados de la evaluación molecular de *H. pylori* en las muestras gástricas de los 10 pacientes

con resultado positivo en el agua de sus domicilios, se obtuvo que los 10 casos fueron positivos a *H. pylori*.

En esta tabla se describen las características demográficas de los pacientes residentes en los domicilios con resultado positivo de *H. pylori* en el agua domiciliaria. Se considero la muestra positiva si presentaba positividad en al menos un gen. En el caso de tiempo viviendo en el domicilio, se encontró que 9 de los 10 paciente llevan viviendo más de 10 años en el domicilio, lo que puede condicionar a la contención del paciente y de la familia residente en el domicilio.

Tabla 11.- Características de demográficas de los pacientes residentes en los domicilios con resultado positivo de *H. pylori* en el agua domiciliaria.

Código	Gen HsPA	Gen Ureasa	Tiempo viviendo en el domicilio	Tipo de abastecimiento de agua	Agua de consumo	Estatus	Sector de Lima	Antecedentes
RNV-1745	Negativo	Positivo	>10 años	Potable	Agua hervida	Vivo	Lima Este	Ninguno
WMR-1757	Negativo	Positivo	>10 años	Potable	Agua hervida	Fallecido	Lima Centro	Gastritis
CMR-1828	Positivo	Negativo	>10 años	Cisterna	Agua hervida	Vivo	Lima Sur	Gastritis
DCF-1824	Positivo	Positivo	>10 años	Potable	Agua hervida	Fallecido	Lima Este	Gastritis
MRS-1940	Positivo	Positivo	>10 años	Potable	Agua hervida	Vivo	Lima Este	Ninguno
JJC-1948	Negativo	Positivo	>10 años	Potable	Agua hervida	Vivo	Lima Sur	Gastritis
MLZ-2085	Negativo	Positivo	>10 años	Potable	Agua hervida	Fallecido	Lima Sur	Gastritis
CHU-2413	Positivo	Positivo	5-10 años	Potable	Agua embotellada	Vivo	Callao	Gastritis
TRB-2425	Positivo	Negativo	>10 años	Potable	Agua hervida	Vivo	Callao	Gastritis
ERM-2514	Positivo	Positivo	>10 años	Potable	Agua hervida	Vivo	Lima Este	Problemas gástricos

De los 10 pacientes con resultado positivo de *H. pylori* en el agua de consumo humano, se evidenció que nueve de los diez casos positivos residían más de 10 años en sus domicilios, y solo uno residía en un lapso comprendido entre 5 a 10 años.

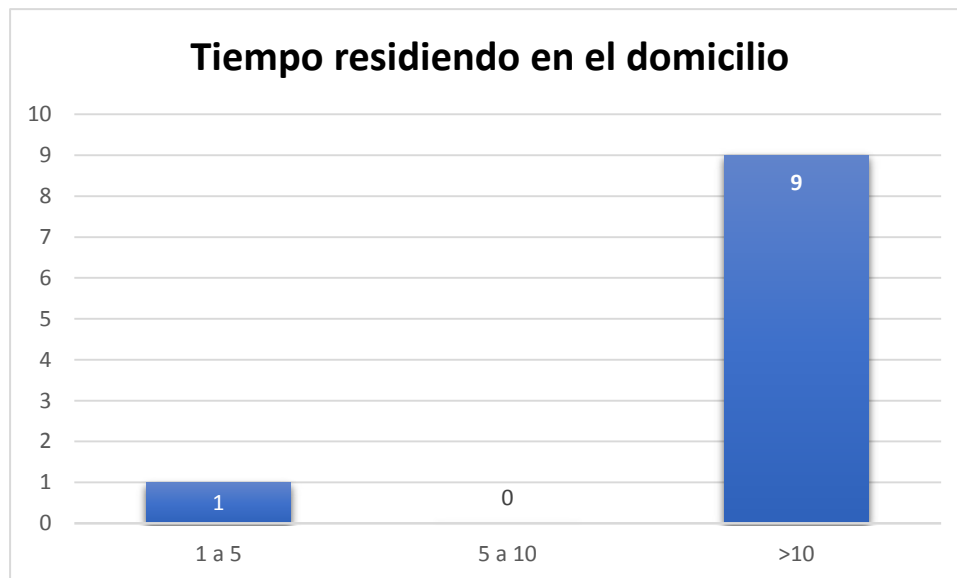


Gráfico 1.- Tiempo residiendo en el domicilio.

El tipo de abastecimiento de agua que se presentó con mayor frecuencia entre los diez casos positivos a la presencia de *H. pylori*, fue el tipo de abastecimiento de tipo potable con 9 casos, en tanto el tipo de abastecimiento de cisterna se presentó en sólo un caso.

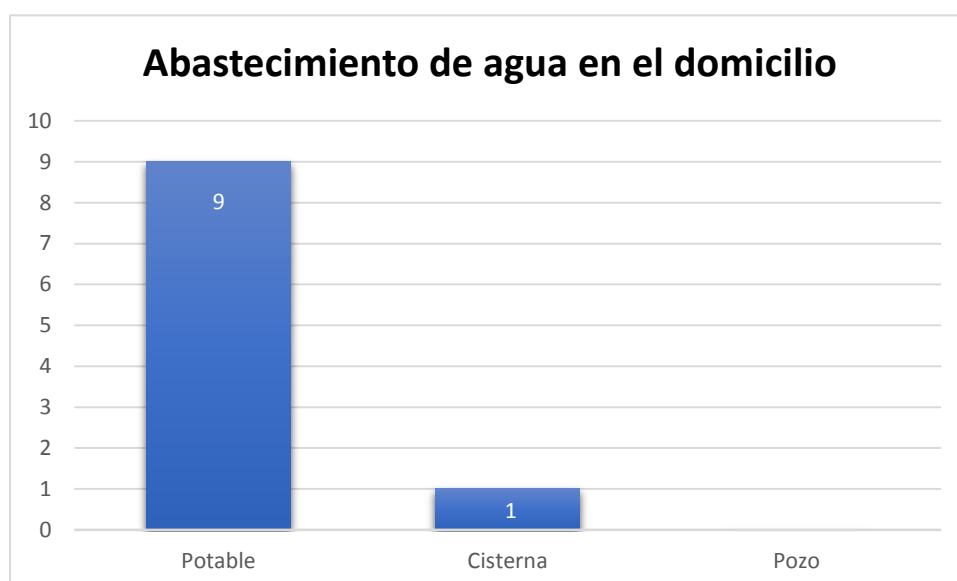


Gráfico 2.- Abastecimiento de agua en el domicilio.

El tipo de consumo de agua que se presentó con mayor frecuencia entre los diez casos positivos a la presencia de *H. pylori*, fue el consumo de agua potable con 9 casos, en tanto el consumo de agua embotellada se presentó en sólo un caso.

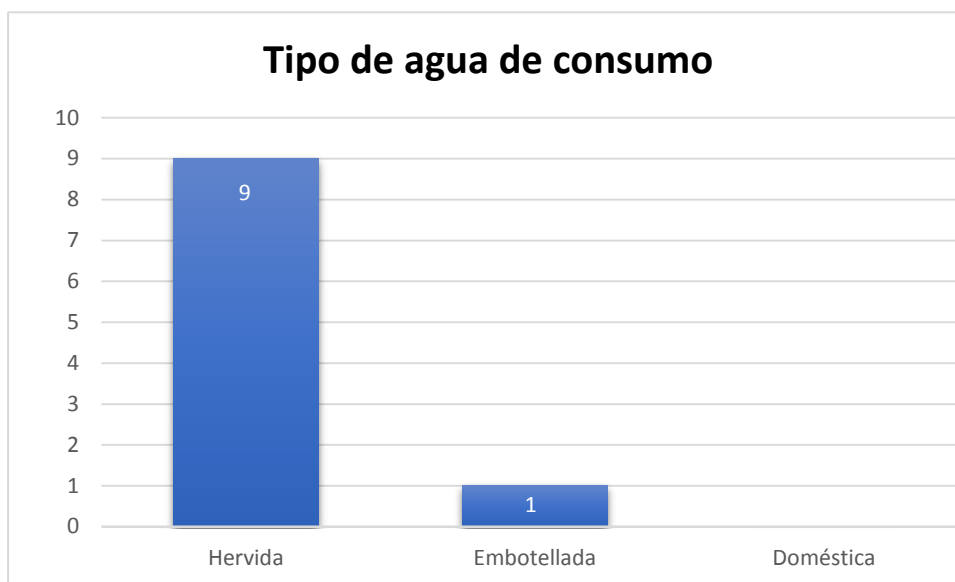


Gráfico 3.- Tipo de agua de consumo

V. DISCUSIÓN

En el presente trabajo se evaluó la prevalencia de *H. pylori* en 84 muestras de agua tomadas en los domicilios de pacientes con diagnóstico de cáncer gástrico, y se obtuvo 10 casos positivos, este resultado de casos positivos representa el 11.90% del total de muestras evaluadas. Un antecedente importante respecto a la evaluación *H. pylori* en agua de consumo humano fue el obtenido por Hultén y col. en el año 1996, ya que evaluó 48 muestras de agua de consumo, obtenidas de los pueblos jóvenes ubicados en Lima, como resultado obtuvo una prevalencia del gen adhesina y gen ARN 16S ribosomal de *H. pylori* en el 50% y 22.91% de las muestras evaluadas, respectivamente. Por ello resulta importante el evaluar la presencia de *H. pylori*, principalmente en localidades en las cuales el sistema de distribución de agua potable no es eficiente. También se encontró una prevalencia del factor de colonización ureA en el 9.52% (8/84) de las muestras de agua de consumo humano de los pacientes diagnosticados con cáncer gástrico, y que son *H. pylori* positivos, y existe una prevalencia del factor de colonización hspA en el 7.14% (6/84) de las muestras de agua de consumo humano de los pacientes diagnosticados con cáncer gástrico, y que son *H. pylori* positivos. Este resultado demuestra que una de las vías transmisión de *H. pylori*, en la actualidad, es el agua de consumo. Sin embargo, no es el único mecanismo de transmisión con *H. pylori*, también se adquiere por vía oral de persona a persona, o por medio de la contaminación de alimentos o contaminación del agua. La infección de la mucosa gástrica por *H. pylori* induce una reacción inflamatoria aguda y crónica cuya intensidad depende de factores asociados con el huésped y la bacteria. Se cree que esta

reacción inflamatoria prolongada, o gastritis crónica activa, es uno de los principales factores que contribuyen a la transformación maligna del epitelio, lo cual conlleva a un proceso de cáncer gástrico.

En el presente trabajo los resultados obtenidos, en cuanto a prevalencia de *H. pylori* en agua de consumo humano son diferentes a los resultados obtenidos por Hulten y col. ,ya que se evaluó el agua de consumo en domicilios ubicados en pueblos jóvenes, obteniéndose como resultado la identificación de la adhesina específica de *H. pylori*, sin embargo, el gen *ureA* y el gen 16sRNA no fueron detectados en el agua proveniente de los grifos de los domicilios⁵. Apartir de ello se planteo que la ausencia de tal ADN en el agua del grifo podría deberse a la desinfección y esterilización de las aguas en el proceso de potabilización de esta, y en las medidas tomadas para una correcta distribución de esta a los hogares.

También en un estudio se demostró que el agua de la Atarjea, central de procesamiento desde donde se distribuye el agua a la ciudad de Lima, presentaba material genético de *H. pylori*⁴. Si bien es cierto que el estrato socioeconómico puede condicionar la falta de saneamiento básico y por tanto favorecer una posible contaminación del agua de consumo, existe también la posibilidad de que el agua que llega a los hogares pueda estar ya contaminada, provocando una infección con *H. pylori*, principalmente en la población infantil, esto se concluyó luego de analizar 48 muestras de aguas obtenidas de diferentes pueblos jóvenes en Lima, las cuales fueron analizadas usando la técnica de reacción en cadena de la polimerasa a tiempo real o cuantitativa (qPCR) obteniendo resultados positivos para la

presencia de esta bacteria en el agua almacenada en pozos e incluso en el agua potable⁵.

En este trabajo se ha detectado la presencia de *H. pylori* en 10 de 84 muestras de agua potable, pertenecientes a los domicilios de los pacientes con diagnóstico de cáncer gástrico. De acuerdo con los resultados mostrados en la tabla 8, se evidencia una mayor frecuencia de casos positivos en agua potable de los domicilios ubicados en la zona este de Lima, y se corroboró que estos domicilios se encontraban en zonas designadas como asentamientos humanos, en las cuales se apreciaba distribución de agua potable mediante tuberías, y sin embargo se obtuvo resultados positivos para la presencia de *H. pylori*. También se pudo evidenciar que el 84.52% (71) pacientes reside en el lugar de domicilio por un periodo mayor a 10 años, y el 90% (9/10) de las muestras positivas a *H. pylori* provenían de domicilios en donde los pacientes residían más de 10 años. El tiempo de residencia mayor a 10 años se presentó en el 87.5% (7/8) de las muestras de agua positiva al factor de colonización ureA, mientras que el tiempo de residencia mayor a 10 años se presentó en el 83.33% (5/6) de las muestras positivas al factor de colonización hspA, es probable que tanto los pacientes así como sus familiares hayan venido consumiendo agua potable contaminada en el domicilio actual en el que residen durante muchos años y ello puede contribuir a la infección por *H. pylori*. Una posible infección por *H. pylori* en pacientes y familiares puede estar asociado a las condiciones socioeconómicas de las familias ya que diversos estudios epidemiológicos realizados alrededor del mundo han encontrado que los países en desarrollo presentan una mayor tasa de

infección por *H. pylori*, en comparación con países desarrollados; por lo tanto, las condiciones socioeconómicas y las mejoras en el saneamiento de la distribución del agua potable están asociadas a una reducción de la incidencia de infección por *H. pylori*¹⁰.

En este trabajo se detectaron los genes de colonización: *ureA* y *hspA*, y se consideraron como resultado positivo aquellas muestras de agua en las cuales se presentó positividad en al menos uno de estos dos genes.

Hay antecedentes en los cuales se ha usado la técnica de PCR para la detección del gen de virulencia *vacA*, Watson y col.⁵ encontraron ADN de *H. pylori* en el 26% de muestras de agua y biofilms, obtenidas de 11 propiedades domésticas y siete propiedades educativas en el reino unido. Khan y col.²⁶ encontraron que el 4% de 50 muestras de agua potable analizadas mediante la técnica de qPCR fue positiva para *H. pylori*.

De las muestras de agua potable obtenidas con resultado positivo para la detección de *H. pylori*, a nuestro conocimiento, esta es la primera vez que este patógeno es detectado con éxito mediante la técnica de qPCR en agua potable. La técnica qPCR se ha aplicado con anterioridad en la detección de este patógeno en aguas residuales, 84% de las muestras positivas para la amplificación de *vacA* gen²⁷ pero esta técnica no pudo detectar *H. pylori* cuando se aplicó a agua potable^{28,29}.

Los sistemas de distribución de agua potable no son el ambiente adecuado para el crecimiento de microorganismos debido al bajos niveles de nutrientes y la presencia de residuos de químicos desinfectantes²⁵, sin embargo, estudios anteriores han sugerido la capacidad de *H. pylori* para

formar biofilms en agua, y su ADN ha sido detectado dentro de estos biofilms mediante la técnica de PCR⁴.

En el presente trabajo, la fuente de agua que se presentó con mayor frecuencia en las muestras analizadas fue el agua potable con 95.24 % (80/84), y el 90% (9/10) de las muestras positivas a *H. pylori* provenían de fuente de agua potable, frente a un 10% (1/10) que provenía de fuente de cisterna. Los resultados positivos para ambos factores de colonización fueron detectados en agua de fuente potable, todas las nuestras muestras fueron tomadas de la distribución final (grifo y pozo de agua), en algunos casos es posible confirmar que la fuente de *H. pylori* es proveniente del sistema de distribución de agua, en otros casos debido al método de almacenamiento de agua, es posible que la contaminación del agua puede haberse ocasionado por acción humana, sin embargo, resultados obtenidos por muchos otros autores sobre presencia de *H. pylori* en biofilms y agua potable han demostrado la gran posibilidad de que este organismo sea extendido por el agua²⁻⁶.

Luego de analizar la información obtenida y comparar con estudios previos como los realizados por Klein⁴, Ramirez³ y Hulten⁵; en los cuales se presentaron resultados positivos de la presencia de *H. pylori* en muestras de agua obtenidas en la ciudad de Lima, se puede inferir que aún existen factores de riesgos asociados a la distribución del agua potable que contribuyen a la infección por *H. pylori* en la población de Lima, ya que en el presente estudio los resultados obtenidos a la presencia de *H. pylori* fueron en muestras de agua potable.

VI.- CONCLUSIONES

- Existe una prevalencia de *H. pylori* con al menos un resultado positivo en alguno de los dos factores de colonización evaluados en el 11.90 % (10/84) de las muestras de agua de consumo humano de los pacientes diagnosticados con cáncer gástrico, y que son *H. pylori* positivos en el INEN durante el periodo 2015-2016.
- Existe una prevalencia del factor de colonización ureA en el 9.52% (8/84) de las muestras de agua de consumo humano de los pacientes diagnosticados con cáncer gástrico, y que son *H. pylori* positivos. También existe una prevalencia del factor de colonización hspA en el 7.14% (6/84) de las muestras de agua de consumo humano de los pacientes diagnosticados con cáncer gástrico, y que son *H. pylori* positivos.
- Se evidenció que el 84.52% (71) pacientes reside en el lugar de domicilio por un periodo mayor a 10 años, y el 90% (9/10) de las muestras positivas a *H. pylori* provenían de domicilios en donde los pacientes residían más de 10 años. El tiempo de residencia mayor a 10 años se presentó en el 87.5% (7/8) de las muestras de agua positiva al factor de colonización ureA, mientras que el tiempo de residencia mayor a 10 años se presentó en el 83.33% (5/6) de las muestras positivas al factor de colonización hspA.

- La fuente de agua que se presentó con mayor frecuencia en las muestras de analizadas fue el agua potable con 95.24 % (80/84), y el 90% (9/10) de las muestras positivas a *H. pylori* provenían de fuente de agua potable, frente a un 10% (1/10) que provenía de fuente de cisterna. Los resultados positivos para ambos factores de colonización fueron detectados en agua de fuente potable.

VII.- RECOMENDACIONES

- Ampliar el volumen de recolección de muestra de agua domiciliaria.
- Evaluar parámetros fisicoquímicos para complementar la información obtenida.
- Ampliar el número de muestras recolectadas, y de ser posible obtener una cantidad suficientemente representativa para cada zona de Lima.

VIII.- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. OMS. Guías para la calidad del agua potable: Primer apéndice a la tercera edición. 2008.
2. Reglamento de la calidad de Agua para Consumo Humano: D.S. N° 031-2010- SA / Ministerio de Salud. Dirección General de Salud Ambiental – Lima: Ministerio de Salud; 2011.
3. Ramirez A. , Chinga E. , Mendoza D. Variación de la prevalencia del *H. pylori* y su relación con los niveles de cloro en el agua de la Atarjea, Lima. Periodo 1985-2002. Rev. Gastroenterol. Perú 2004; 24:223-229.
4. Klein PD, Opekun A, Smith E, Graham D, Gaillour A, Group GPW. Water source as risk factor for *Helicobacter pylori* infection in Peruvian children. The Lancet. 1991;337(8756):1503-6.
5. Hulten K, Han SW, Enroth H, Klein PD, Opekun AR, Gilman RH, et al. *Helicobacter pylori* in the drinking water in Peru. Gastroenterology. 1996;110(4):1031-5.
6. INEI. Instituto Nacional de Estadística e Informática. Perú: Evolución de los indicadores de los objetivos de desarrollo del milenio al 2010. 2014.
7. Holman CB, Bachoon DS, Otero E, Ramsubhag A. Detection of *Helicobacter pylori* in the coastal waters of Georgia, Puerto Rico and Trinidad. Marine pollution bulletin. 2014;79(1-2):354-8.
8. Leon-Barua R, Recavarren-Arce S, Ramirez-Ramos A, Gilman RH. The Peruvian contribution to the knowledge of the role of *Helicobacter pylori* infection in the genesis of gastric premalignant lesions that predispose to gastric cancer. Gastroenterology. 2008;134(3):894.
9. Schneider BG, Peng DF, Camargo MC, Piazuolo MB, Sicinschi LA, Mera R, et al. Promoter DNA hypermethylation in gastric biopsies from subjects at high and low risk for gastric cancer. International journal of cancer. 2010;127(11):2588-97.
10. International Agency for Research on Cancer. IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, Volume 61, Schistosomes, liver flukes and *Helicobacter pylori*. Lyon, France: 1994.

11. Wroblewski LE, Peek RM, Jr. *Helicobacter pylori* in gastric carcinogenesis: mechanisms. *Gastroenterology clinics of North America*. 2013;42(2):285-98.
12. Yepes C, Rodríguez A, Ruiz A, Ariza B. Resistencia antibiótica del *Helicobacter pylori* en el Hospital Universitario San Ignacio de Bogotá. Antibiotics resistance of *Helicobacter pylori* at the San Ignacio University Hospital in Bogota. *Acta Médica Colombiana*. 2008;33(1):11-4.
13. Ramirez-Ramos A, Gilman RH, Spira W, Recavarren S, Watanabe J, Leon-Barua R, et al. Ecology of *Helicobacter pylori* in Peru. *Gut*. 1992;33(5):604-5.
14. Ramirez A. , Chinga E. , Mendoza D. , Leey J. , Segovia M. , Otoy C. Variación de la prevalencia del *H. Pylori* en el Perú Periodo (1985-2002), en una población de nivel socioeconómico medio y alto. *Rev. Gastroenterol. Peru* 2003; 23:92-98.
15. Wroblewski LE, Peek RM, Jr., Wilson KT. *Helicobacter pylori* and gastric cancer: factors that modulate disease risk. *Clin Microbiol Rev*. 2010;23(4):713-39.
16. Correa P. Is gastric cancer preventable? *Gut*. 2004;53(9):1217-9.
17. Registro de Cáncer de Lima Metropolitana. Incidencia y Mortalidad 2010– 2012, Volumen 5. Lima 2016
18. Piazuelo MB, Correa P. Gastric cancer: Overview. *Colombia medica*. 2013;44(3):192-201.
19. Santiago P, Moreno Y, Ferrus MA. Identification of Viable *Helicobacter pylori* in Drinking Water Supplies by Cultural and Molecular Techniques. *Helicobacter*. 2015;20(4):252-9.
20. Khan A, Farooqui A, Kazmi SU. Presence of *Helicobacter pylori* in drinking water of Karachi, Pakistan. *Journal of infection in developing countries*. 2012;6(3):251-5.
21. Horiuchi T, Ohkusa T, Watanabe M, Kobayashi D, Miwa H, Eishi Y. *Helicobacter pylori* DNA in drinking water in Japan. *Microbiology and immunology*. 2001;45(7):515-9.
22. Mazari-Hiriart M, Lopez-Vidal Y, Calva J. *Helicobacter pylori* in water systems for human use in Mexico City. *Water Science and Technology*. 2001;43(12):93-8.

23. Al-Sulami A, Al-Edani T, Al-Abdula A. Culture method and PCR for the detection of *Helicobacter pylori* in drinking water in Basrah Governorate Iraq. Gastroenterology research and practice. 2012;2012.
24. Amirhooshang A, Ramin A, Ehsan A, Mansour R, Shahram B. High frequency of *Helicobacter pylori* DNA in drinking water in Kermanshah, Iran, during June-November 2012. J Water Health. 2014;12(3):504-12.
25. El-Sharouny E, El-Shazli H, Olama Z. Detection of *Helicobacter pylori* DNA in Some Egyptian Water Systems and Its Incidence of Transmission to Individuals. Iranian journal of public health. 2015;44(2):203-10.
26. Pilco, C., M. Payet, and G. Cáceres. "Cáncer gástrico en Lima metropolitana." Revista de Gastroenterología del Perú 26.4 (2006): 377-385.
27. Devesa SS, Blot WJ, Fraumeni JF, Jr. Changing patterns in the incidence of esophageal and gastric carcinoma in the United States. Cancer. 1998;83(10):2049-53.
28. Botterweck AA, Schouten LJ, Volovics A, Dorant E, van Den Brandt PA. Trends in incidence of adenocarcinoma of the oesophagus and gastric cardia in ten European countries. International journal of epidemiology. 2000;29(4):645-54.
29. Ang TL, Fock KM. Clinical epidemiology of gastric cancer. Singapore medical journal. 2014;55(12):621-8.
30. Akiba S, Koriyama C, Herrera-Goepfert R, Eizuru Y. Epstein-Barr virus associated gastric carcinoma: epidemiological and clinicopathological features. Cancer Sci. 2008;99(2):195-201.
31. Carrascal E, Koriyama C, Akiba S, Tamayo O, Itoh T, Eizuru Y, et al. Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma in Cali, Colombia. Oncology reports. 2003;10(4):1059-62.
32. Gonzalez CA, Agudo A. Carcinogenesis, prevention and early detection of gastric cancer: where we are and where we should go. International journal of cancer. 2012;130(4):745-53.
33. Murphy G, Pfeiffer R, Camargo MC, Rabkin CS. Meta-analysis shows that prevalence of Epstein-Barr virus-positive gastric cancer differs based on sex and anatomic location. Gastroenterology. 2009;137(3):824-33.

34. Camargo MC, Kim WH, Chiaravalli AM, Kim KM, Corvalan AH, Matsuo K, et al. Improved survival of gastric cancer with tumour Epstein-Barr virus positivity: an international pooled analysis. *Gut*. 2014;63(2):236-43.
35. Gonzalez CA, Pera G, Agudo A, Palli D, Krogh V, Vineis P, et al. Smoking and the risk of gastric cancer in the European Prospective Investigation Into Cancer and Nutrition (EPIC). *International journal of cancer*. 2003;107(4):629-34.
36. Loh JT, Friedman DB, Piazuelo MB, Bravo LE, Wilson KT, Peek RM, Jr., et al. Analysis of *Helicobacter pylori* cagA promoter elements required for salt-induced upregulation of CagA expression. *Infection and immunity*. 2012;80(9):3094-106.
37. Noto JM, Gaddy JA, Lee JY, Piazuelo MB, Friedman DB, Colvin DC, et al. Iron deficiency accelerates *Helicobacter pylori*-induced carcinogenesis in rodents and humans. *J Clin Invest*. 2013;123(1):479-92.
38. Tramacere I, Negri E, Pelucchi C, Bagnardi V, Rota M, Scotti L, et al. A meta-analysis on alcohol drinking and gastric cancer risk. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology*. 2012;23(1):28-36.
39. Camargo MC, Mera R, Correa P, Peek RM, Jr., Fontham ET, Goodman KJ, et al. Interleukin-1beta and interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphisms and gastric cancer: a meta-analysis. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*. 2006;15(9):1674-87.
40. Persson C, Canedo P, Machado JC, El-Omar EM, Forman D. Polymorphisms in inflammatory response genes and their association with gastric cancer: A HuGE systematic review and meta-analyses. *Am J Epidemiol*. 2011;173(3):259-70.
41. Saeki N, Ono H, Sakamoto H, Yoshida T. Genetic factors related to gastric cancer susceptibility identified using a genome-wide association study. *Cancer Sci*. 2013;104(1):1-8.

42. Oliveira C, Seruca R, Carneiro F. Genetics, pathology, and clinics of familial gastric cancer. *International journal of surgical pathology*. 2006;14(1):21-33.
43. Guilford P, Blair V, More H, Humar B. A short guide to hereditary diffuse gastric cancer. *Hereditary cancer in clinical practice*. 2007;5(4):183-94.
44. Cover TL, Blaser MJ. *Helicobacter pylori* in health and disease. *Gastroenterology*. 2009;136(6):1863-73.
45. Bravo LE, van Doorn LJ, Realpe JL, Correa P. Virulence-associated genotypes of *Helicobacter pylori*: do they explain the African enigma? *Am J Gastroenterol*. 2002;97(11):2839-42.
46. Sicinschi LA, Correa P, Peek RM, Camargo MC, Piazzuelo MB, Romero-Gallo J, et al. CagA C-terminal variations in *Helicobacter pylori* strains from Colombian patients with gastric precancerous lesions. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2010;16(4):369-78.
47. Atherton JC, Blaser MJ. Coadaptation of *Helicobacter pylori* and humans: ancient history, modern implications. *J Clin Invest*. 2009;119(9):2475-87.
48. Linz B, Balloux F, Moodley Y, Manica A, Liu H, Roumagnac P, et al. An African origin for the intimate association between humans and *Helicobacter pylori*. *Nature*. 2007;445(7130):915-8.
49. Montero Campos V. Enfoques ambientales en la epidemiología de la infección por *Helicobacter Pylori*. *Revista Costarricense de Salud Pública*. 2009;18:84-93.
50. Mackay WG, Gribbon LT, Barer MR, Reid DC. Biofilms in drinking water systems: a possible reservoir for *Helicobacter pylori*. *Journal of applied microbiology*. 1998;85 Suppl 1:52S-9S.
51. Gao MS, Azevedo NF, Wilks SA, Vieira MJ, Keevil CW. Persistence of *Helicobacter pylori* in heterotrophic drinking-water biofilms. *Applied and environmental microbiology*. 2008;74(19):5898-904.
52. Marques-Lespier JM, Gonzalez-Pons M, Cruz-Correa M. Current Perspectives on Gastric Cancer. *Gastroenterology clinics of North America*. 2016;45(3):413-28.

53. Van Cutsem E, Sagaert X, Topal B, Haustermans K, Prenen H. Gastric cancer. *Lancet*. 2016;388(10060):2654-64.
54. Hu B, El Hajj N, Sittler S, Lammert N, Barnes R, Meloni-Ehrig A. Gastric cancer: Classification, histology and application of molecular pathology. *Journal of gastrointestinal oncology*. 2012;3(3):251-61.

ANEXOS

Anexo 1.-Recolección de muestras de agua domiciliarias



Anexo 2.- Sistema de filtrado al vacío



Anexo 3.- Consentimiento informado para la encuesta.

CONSENTIMIENTO INFORMADO																																		
<p>La presente investigación es conducida por la Dr. Carlos A. Castañeda Altamirano, La meta de este estudio es determinar la presencia de Helicobacter pylori en el agua de consumo humano en los domicilios de los pacientes registrados en el Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas.</p> <p>Si usted accede a participar en este estudio, se le pedirá responder preguntas de la encuesta a continuación, durante un tiempo aproximadamente 10 minutos de su tiempo.</p> <p>La participación en este estudio es estrictamente voluntaria. La información que se recoja será confidencial y no se usará para ningún otro propósito fuera de los de esta investigación.</p> <p>Si tiene alguna duda sobre este proyecto, puede hacer preguntas en cualquier momento consultando en el Departamento de Investigación. Igualmente, puede retirarse del proyecto en cualquier momento sin que eso le perjudique en ninguna forma. Si algunas de las preguntas de la encuesta le parecen incómodas, tiene usted el derecho de hacérselo saber al investigador o de no responderlas.</p> <p>Desde ya le agradecemos su participación.</p>																																		
Acepto participar voluntariamente en esta investigación.																																		
<div style="display: flex; justify-content: space-between;"><div>Nombre del Participante (en letras de imprenta)</div><div>Firma del Participante</div><div>Fecha</div></div>																																		
FICHA DE RECOLECCION DE DATOS																																		
<div style="display: flex; justify-content: space-between;"><div>DATOS PERSONALES:</div><div>Nº HISTORIA CLÍNICA <input style="width: 150px;" type="text"/></div></div> <p>1. Nombre Completo: _____</p> <p>2. Lugar de nacimiento: _____</p> <p>3. Fecha de nacimiento: <input style="width: 80px;" type="text"/> 4. Sexo: <input style="width: 40px;" type="text"/></p> <p>5. Lugar de domicilio: _____ (Departamento) _____ (Provincia) _____</p> <p>6. Teléfono: _____</p>																																		
<div style="display: flex; justify-content: space-between;"><div style="width: 30%;"><p>7. Tiempo de permanencia en el lugar:</p><p><input type="radio"/> < 5 años <input style="width: 50px;" type="text"/></p><p><input type="radio"/> 5-10 años <input style="width: 50px;" type="text"/></p><p><input type="radio"/> >10 años <input style="width: 50px;" type="text"/></p></div><div style="width: 30%;"><p>8. Tipo de abastecimiento de agua</p><p><input type="radio"/> Potable <input style="width: 50px;" type="text"/></p><p><input type="radio"/> Cisterna <input style="width: 50px;" type="text"/></p><p><input type="radio"/> Pozo <input style="width: 50px;" type="text"/></p><p><input type="radio"/> Otros <input style="width: 50px;" type="text"/></p></div><div style="width: 35%;"><p>9. Agua de consumo:</p><p><input type="radio"/> Embotellada <input style="width: 50px;" type="text"/></p><p><input type="radio"/> Agua hervida <input style="width: 50px;" type="text"/></p><p><input type="radio"/> Agua de doméstica c/ filtro <input style="width: 50px;" type="text"/></p></div></div>																																		
<div style="display: flex; justify-content: space-between;"><div style="width: 30%;"><p>10. Antecedentes:</p><p><input type="radio"/> Gastritis <input style="width: 50px;" type="text"/></p><p><input type="radio"/> Úlceras <input style="width: 50px;" type="text"/></p><p><input type="radio"/> Problemas gástricos <input style="width: 50px;" type="text"/></p><p>Permanentes () <input style="width: 50px;" type="text"/></p></div><div style="width: 65%;"><p>10. Numero de familiares en primer grado del paciente <input style="width: 50px;" type="text"/></p><table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; text-align: center;"><thead><tr><th style="width: 50%;">Nombre y apellido</th><th style="width: 10%;">Cáncer gástrico</th><th style="width: 10%;">Gastritis</th><th style="width: 10%;">Úlceras</th><th style="width: 10%;">PGP</th></tr></thead><tbody><tr><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td></tr></tbody></table></div></div>					Nombre y apellido	Cáncer gástrico	Gastritis	Úlceras	PGP																									
Nombre y apellido	Cáncer gástrico	Gastritis	Úlceras	PGP																														

Anexo 4.- Aprobacion del comité de etica



Ministerio
de Salud

Instituto Nacional de Enfermedades
Neoplásicas



"AÑO DE LA DIVERSIFICACIÓN PRODUCTIVA Y DEL FORTALECIMIENTO DE LA EDUCACIÓN"

Surquillo, 16 de Enero del 2015

CARTA N° 010 -2015-CRP-DI-DICON/INEN

Doctor
Carlos Castañeda Altamirano
Investigador Principal
Presente.

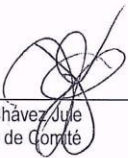
De nuestra consideración:


Es grato dirigirme a usted para saludarlo cordialmente e informarle que el Comité Revisor de Protocolos del Departamento de Investigación del INEN, ha revisado y aprueba el trabajo de Investigación titulado "ESTUDIO GENOMICO, EPIDEMIOLOGIA Y CLINICA EVALUANDO LA RELACION ENTRE EL CANCER GASTRICO Y HELICOBACTER PYLORI: ROL DE AGUA DE CONSUMO HUMANO COMO VIA DE TRANSMISION" INEN 15-10.


De acuerdo con las normas deberá presentar un informe sobre los avances del dicho proyecto, así como las conclusiones del mismo a esta Oficina.

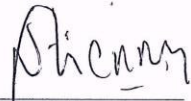
Esperando la respuesta para la respectiva aprobación, quedamos de Usted.


Atentamente,


Vázquez Chávez Jule
Presidente de Comité


Sandro Casavilca Zambrano
Miembro de Comité


Margá López Contreras
Miembro de Comité


José Carlos Gutiérrez Lazarte
Miembro de Comité


Odorico Belsuzari Padilla
Miembro de Comité

Anexo 5. Renovación de la aprobación del comité ética



PERÚ

Ministerio de
Salud

Instituto Nacional de
Enfermedades Neoplásicas



"AÑO DE LA CONSOLIDACIÓN DEL MAR DE GRAU"

Surquillo, 04 de marzo del 2016

CARTA N° 109 – 2016 –CIE/INEN

M.C.
CARLOS CASTAÑEDA ALTAMIRANO
Investigador Principal

Presente. –

REF.: PROYECTO: "ESTUDIO GENÓMICO, EPIDEMIOLÓGICO Y CLÍNICO EVALUANDO LA RELACION ENTRE EL CANCER GÁSTRICO Y HELICOBACTER PYLORI: ROL DEL AGUA DE CONSUMO HUMANO COMO VÍA DE TRANSMISIÓN" INEN 15-10

ASUNTO: RENOVACIÓN DE PROYECTO

Tengo a bien dirigirme a usted para informarle que el Comité Institucional de Ética en Investigación del INEN, **APRUEBA** la Renovación del PROYECTO: "ESTUDIO GENÓMICO, EPIDEMIOLÓGICO Y CLÍNICO EVALUANDO LA RELACION ENTRE EL CANCER GÁSTRICO Y HELICOBACTER PYLORI: ROL DEL AGUA DE CONSUMO HUMANO COMO VÍA DE TRANSMISIÓN" INEN 15-10

La renovación del protocolo se otorga desde febrero del año 2016 hasta febrero del año 2017.

El Comité Institucional de Ética en Investigación, deja constancia que la documentación presentada a seguir se encuentra vigente:

- Estudio de investigación ESTUDIO GENÓMICO, EPIDEMIOLÓGICO Y CLÍNICO EVALUANDO LA RELACION ENTRE EL CANCER GÁSTRICO Y HELICOBACTER PYLORI: ROL DEL AGUA DE CONSUMO HUMANO COMO VÍA DE TRANSMISIÓN.
- Consentimiento Informado para la donación voluntaria de muestras biológicas al proyecto de investigación obtenidas en el curso de procedimientos diagnósticos o quirúrgicos.

Atentamente,


Dr. ARISTIDES JUVENAL SÁNCHEZ UTRÓN
Presidente
Comité Institucional de Ética en Investigación
Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas

c.c.: Archivo
M.TITO

INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES NEOPLÁSICAS
Av. Angamos Este 2520, Lima – 20 Tel.: 201 - 6500 Fax: 620-4991 Web: www.inen.gob.pe e-mail: postmaster@inen.sld.pe